



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO  
FACULTAD DE CIENCIAS



EFFECTO DE LA LUZ MONOCROMÁTICA EN LA ACTIVIDAD  
LOCOMOTORA DEL CANGREJO DE RIO *PROCAMBARUS CLARKII*  
(GIRARD) CON LESIÓN DE LOS FOTORECEPTORES CAUDALES

TESIS  
PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTADO POR:  
JUAN CARLOS SÁNCHEZ HERNÁNDEZ

DIRECTORES:  
DR. JOSÉ FERNANDO MÉNDEZ SÁNCHEZ  
DR. LEONARDO RODRÍGUEZ SOSA

El presente trabajo fue apoyado por la Facultad de Medicina-UNAM con el proyecto 086/2016, y con la beca a JCSH en el proyecto IN214817 PAPIIT-UNAM (a LRS).

## ÍNDICE

	<i>Página</i>
Índice de Figuras y Tablas	-6-
Siglas y Abreviaturas	-14-
Resumen	-15-
1. Introducción	
1.1 Sistema nervioso del cangrejo	-17-
1.2 Actividad locomotora del cangrejo	-19-
1.3 Ritmos circadianos en el cangrejo	-20-
1.4 La fotosensibilidad de los fotoreceptores caudales del cangrejo	-22-
1.5 Asimetría funcional en invertebrados	-23-
1.6. Planteamiento del problema, y justificación del presente estudio	-26-
2. Hipótesis y Objetivos	-27-
3. Materiales y método	
3.1 Animales	-28-
3.2 Cirugía experimental	-29-
3.3 Procedimiento de medición de la actividad locomotora del cangrejo <i>P. clarkii</i>	-31-
3.4 Análisis estadístico	-33-
4. Resultados	
4.1 Efecto de la luz azul en la actividad locomotora del grupo de cangrejos control: intactos y con falsa lesión	-35-
4.2 Efecto de la luz azul en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección completa de la cadena abdominal	-37-
4.3 Efecto de la luz azul en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección de la cadena abdominal del lado izquierdo	-45-
4.4 Efecto de la luz azul en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección de la cadena abdominal del lado derecho	-53-
4.5 Efecto de la luz verde en la actividad locomotora del grupo de cangrejos control: intactos y con falsa lesión	-61-

	<i>Página</i>
<i>4.6 Efecto de la luz verde en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección completa de la cadena abdominal</i>	<i>-62-</i>
<i>4.7 Efecto de la luz verde en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección de la cadena abdominal del lado izquierdo</i>	<i>-72-</i>
<i>4.8 Efecto de la luz verde en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección de la cadena abdominal del lado derecho</i>	<i>-80-</i>
5. Discusión	-89-
6. Conclusiones	-92-
7. Bibliografía	-93-

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<i>Número</i>	<i>Nombre de la Figura</i>	<i>Página</i>
Fig. 1	El sistema nervioso del cangrejo: sección microquirúrgica del tracto conectivo entre el 5° y 6° ganglio abdominal.	-30-
Fig. 2	Representación esquemática del equipo de registro de la actividad locomotora del cangrejo.	-32-
Fig. 3	Captura de pantalla del programa CTMV.	-33-
Fig. 4	Efecto de la sección completa del tracto conectivo en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática azul durante una hora.	-39-
Fig. 5	Efecto de la sección completa del tracto conectivo del cangrejo en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz azul durante una hora.	-44-
Fig. 6	Efecto de la sección del tracto conectivo del lado izquierdo en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática azul durante una hora.	-47-
Fig. 7	Efecto de la sección de la cadena ganglionar abdominal del cangrejo del lado izquierdo, en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz azul durante una hora.	-52-
Fig. 8	Efecto de la sección del tracto conectivo del lado derecho en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática azul durante una hora.	-55-

<i>Número</i>	<i>Nombre de la Figura</i>	<i>Página</i>
Fig. 9	Efecto de la sección de la cadena ganglionar abdominal del cangrejo del lado derecho, en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz azul durante una hora.	-60-
Fig. 10	Efecto de la sección completa del tracto conectivo en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática verde durante una hora.	-65-
Fig. 11	Efecto de la sección completa del tracto conectivo del cangrejo en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz verde durante una hora.	-71-
Fig. 12	Efecto de la sección del tracto conectivo del lado izquierdo en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática verde durante una hora.	-74-
Fig. 13	Efecto de la sección de la cadena ganglionar abdominal del cangrejo del lado izquierdo, en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz verde durante una hora.	-79-
Fig. 14	Efecto de la sección del tracto conectivo del lado derecho en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática verde durante una hora.	-82-
Fig. 15	Efecto de la sección de la cadena ganglionar abdominal del cangrejo del lado derecho, en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz verde durante una hora.	-88-

<i>Número</i>	<i>Nombre de la Tabla</i>	<i>Página</i>
Tabla 1	Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo intacto estimulado con luz monocromática azul.	-35-
Tabla 2	Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con falsa lesión estimulado con luz monocromática azul.	-36-
Tabla 3	Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con la sección completa de la cadena abdominal estimulado con luz monocromática azul.	-37-
Tabla 4	Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con la sección total de la cadena abdominal vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática azul.	-38-
Tabla 5	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 5 minutos.	-40-
Tabla 6	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 25 minutos.	-41-
Tabla 7	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 45 minutos.	-42-
Tabla 8	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 65 minutos.	-43-

<i>Número</i>	<i>Nombre de la Tabla</i>	<i>Página</i>
Tabla 9	Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con sección del tracto conectivo izquierdo estimulado con luz monocromática azul.	-45-
Tabla 10	Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con sección de la cadena abdominal del lado izquierdo vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática azul.	-46-
Tabla 11	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 5 minutos.	-48-
Tabla 12	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 25 minutos.	-49-
Tabla 13	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 45 minutos.	-50-
Tabla 14	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 65 minutos.	-51-
Tabla 15	Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con sección del tracto conectivo derecho estimulado con luz monocromática azul.	-53-

<i>Número</i>	<i>Nombre de la Tabla</i>	<i>Página</i>
Tabla 16	Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con la sección de la cadena abdominal del lado derecho vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática azul.	-54-
Tabla 17	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 5 minutos.	-56-
Tabla 18	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 25 minutos.	-57-
Tabla 19	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección en el tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 45 minutos.	-58-
Tabla 20	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 65 minutos.	-59-
Tabla 21	Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo intacto estimulado con luz monocromática verde.	-61-
Tabla 22	Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con falsa lesión estimulado con luz monocromática verde.	-61-

<i>Número</i>	<i>Nombre de la Tabla</i>	<i>Página</i>
Tabla 23	Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con la sección completa de la cadena abdominal estimulado con luz monocromática verde.	-63-
Tabla 24	Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con la sección total de la cadena abdominal vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática verde.	-63-
Tabla 25	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 5 minutos.	-66-
Tabla 26	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 25 minutos.	-67-
Tabla 27	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 45 minutos.	-68-
Tabla 28	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 65 minutos.	-69-
Tabla 29	Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con sección del tracto conectivo izquierdo estimulado con luz monocromática verde.	-72-

<i>Número</i>	<i>Nombre de la Tabla</i>	<i>Página</i>
Tabla 30	Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con la sección de la cadena abdominal del lado izquierdo vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática verde.	-73-
Tabla 31	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 5 minutos.	-75-
Tabla 32	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 25 minutos.	-76-
Tabla 33	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 45 minutos.	-77-
Tabla 34	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 65 minutos.	-78-
Tabla 35	Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con sección del tracto conectivo derecho estimulado con luz monocromática verde.	-80-
Tabla 36	Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con la sección de la cadena abdominal del lado derecho vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática verde.	-81-

<i>Número</i>	<i>Nombre de la Tabla</i>	<i>Página</i>
Tabla 37	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 5 minutos.	-83-
Tabla 38	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 25 minutos.	-84-
Tabla 39	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 45 minutos	-85-
Tabla 40	Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 65 minutos.	-86-

## SIGLAS Y ABREVIATURAS

FRC	Fotoreceptor caudal
FRC-I	Fotoreceptor caudal izquierdo
FRC-D	Fotoreceptor caudal derecho
cm	Centímetro
cm/s	Centímetro por segundo
s	Segundo
min	Minuto
CTMV	<i>Crayfish-Tracking Motion Vision</i>
SNC	Sistema nervioso central
SWS	<i>Short wave sensitive opsin protein</i>
LWS	<i>Long wave sensitive opsin protein</i>
OEG	<i>Osmium ethyl gallate</i>
SOG	Ganglio subesofágico
MN	Neurona
GCP	Generador central de patrones
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
ERG	<i>Eye receptor potentials</i>
IQR	Rango Intercuartílico
nm	Nanómetro
lux	Luxes
MR	Medidas repetidas

## RESUMEN

*Antecedentes.* Las condiciones ambientales de luz-oscuridad modulan la actividad locomotora del cangrejo de río *Procambarus clarkii* (Girard). Este crustáceo decápodo cuenta con tres sistemas de fotorecepción, localizados en: 1) la retina, 2) los fotoreceptores extrarretinianos, en el ganglio cerebroide (cerebro), y 3) el fotoreceptor caudal izquierdo (FRC-I) y el fotoreceptor caudal derecho (FRC-D), ambos localizados en el sexto ganglio de la cadena abdominal. Recientemente, hemos caracterizado electrofisiológicamente la respuesta que se presenta entre el FRC-I y el FRC-D, inducida con pulsos de luz blanca o monocromática, y observamos la asimetría en su fotosensibilidad entre ambos fotoreceptores caudales. Por lo tanto, el presente trabajo tiene como propósito analizar el papel funcional del FRC-I y el FRC-D en la actividad locomotora del cangrejo, colocado en el acuario, bajo pulsos de luz monocromática azul o verde.

*Métodos.* Los experimentos se hicieron en un grupo de 49 cangrejos adultos, sin distinción de género. En un grupo de 36 cangrejos se efectuaron diferentes microcirugías experimentales en la cadena abdominal, y se analizó su efecto en la actividad locomotora del cangrejo. Analizamos dos grupos de cangrejos testigo: el grupo de animales intactos (n=4), y el grupo de cangrejos a los que se les practicó una falsa cirugía (sham) (n=5). Para ello, el cangrejo fue adaptado a la obscuridad durante una hora, y luego se colocó en un acuario distinto y recibió pulsos de luz azul monocromática o verde, de cinco minutos de duración cada 15 minutos por cuatro veces, con la misma intensidad de luz. La respuesta locomotora del cangrejo a la fotoestimulación la caracterizamos mediante su desplazamiento (cm) y velocidad (cm/s), utilizando una videocámara y el software Crayfish-Tracking Motion Vision, ambos conectados a una computadora, y posteriormente se hizo el análisis comparativo respectivo.

*Resultados.* Los crustáceos con la falsa cirugía, y los cangrejos intactos mostraron una actividad locomotora similar, provocada por ambos pulsos de luz monocromática. En el primer ensayo, ambos grupos de animales testigo mostraron su mayor actividad locomotora. Los cangrejos intactos con iluminación azul tuvieron

un desplazamiento de 351 ( $\pm 41$ ) cm, con una velocidad promedio de 1.164 ( $\pm 0.101$ ) cm/s, y el grupo de animales con falsa operación el desplazamiento fue de 397 ( $\pm 45$ ) cm, con una velocidad de 1.378 ( $\pm 0.094$ ) cm/s. Mientras que, con la iluminación verde en el primer ensayo, los cangrejos intactos recorrieron una distancia de 375  $\pm 37$  cm, a una velocidad promedio de 1.336 ( $\pm 0.088$ ) cm/s. Los animales con falsa cirugía, en el primer ensayo, se desplazaron 385  $\pm 84$  cm, a una velocidad promedio de 1.285 ( $\pm 0.094$ ) cm/s. En los subsiguientes ensayos, ambos grupos de animales testigos disminuyeron su desplazamiento y velocidades, provocadas por estas dos luces monocromáticas pulsadas.

Los cangrejos con la cadena abdominal seccionada mostraron un desplazamiento y velocidad menores, causadas por ambas iluminaciones monocromáticas. Mientras que, los animales con el hemicadena seccionada del lado izquierdo, mostraron inicialmente un menor desplazamiento y velocidad, provocada por el pulso de luz azul, y en los siguientes ensayos, aumentaron su actividad locomotora. Mientras que, los cangrejos con la cadena abdominal seccionada del lado derecho tenían un desplazamiento y una velocidad más prominentes, inducidos por pulsos de luz azul con respecto a ambos grupos de animales testigo.

*Conclusiones.* Estos resultados sugieren que ambos fotorreceptores caudales participan en la respuesta excitatoria locomotora del cangrejo, inducida por los pulsos de luz monocromática azul o verde. También sugieren, que el fotorreceptor caudal izquierdo contribuye asimétricamente en la respuesta locomotora del cangrejo, causada por ambos pulsos de luz monocromática.

## 1. INTRODUCCIÓN

El cangrejo de río *Procambarus clarkii* (Girard) es un modelo biológico ampliamente utilizado en la fisiología comparada, dado que posee un sistema nervioso simple, y muestra un amplio repertorio conductual. Los ciclos diurnos de luz-obscuridad regulan su actividad locomotora, la cual presenta dos picos, uno de actividad máxima que se presenta al anochecer, y otro de menor magnitud que se manifiesta al amanecer, por lo que se considera que esta es una especie nocturna (Rodríguez-Sosa et. al., 2017). Este crustáceo decápodo cuenta con tres sistemas de fotorecepción, localizados en: 1) la retina, 2) los fotoreceptores extrarretinianos, en el ganglio cerebroide (cerebro), y 3) los fotoreceptores caudales, ubicados en el sexto ganglio abdominal. El presente trabajo de tesis está centrado en analizar el papel funcional de los fotoreceptores caudales en la actividad locomotora del cangrejo *P. clarkii*, colocado en el acuario, bajo pulsos de luz monocromática azul o verde, con base a los siguientes antecedentes:

### 1.1 Sistema nervioso de los cangrejos

El sistema nervioso (SNC) de los cangrejos se extiende desde la cabeza, hasta el extremo caudal del abdomen, está formado por una cadena de ganglios segmentarios, los cuales están unidos por cables de axones intersegmentales, conocidos como conectivos; los ganglios que componen esta cadena contienen un núcleo compuesto de tractos longitudinales, verticales, comisuras y neuropilos sinápticos (Mulloney, 2003; Edwards, 2017). El SNC de estos crustáceos ha sido estudiado desde 1880, cuando se ilustró por primera vez la anatomía general del sistema nervioso, además de la forma de los ganglios simples, los cuerpos de las células nerviosas y los haces de axones (Huxley, 1880). Diez años después, se observaron por primera vez a las neuronas que tenían distintas formas y tamaños, dentro de estos ganglios, las cuales hoy día conocemos como neuronas motoras, neuronas aferentes, interneuronas de proyección e interneuronas locales, así como las terminales axónicas, dendritas y células gliales, regiones conocidas como neuropilos (Retzius, 1890), que es el lugar donde ocurren las sinapsis entre estas neuronas. Sin embargo, no fue hasta un siglo después que se demostró que la

estructura de cada ganglio era la misma en diferentes individuos; mediante el uso de tinciones de plata, Gregory (1974), y Tyrer y Gregory (1982), pudieron trazar las comisuras en los ganglios subesofágicos y torácicos de langostas, con lo cual dieron a conocer que los números y la disposición de estas estructuras eran iguales en cada ganglio (Mulloney, 2003).

Durante la segunda mitad del siglo XX se siguieron perfeccionando las técnicas y métodos para el estudio de las estructuras ganglionares del sistema nervioso central del cangrejo de río, entre las que se destaca la tinción con galato de etilo de osmio (OEG), con el objetivo de teñir mitocondrias y pequeñas gotas de lípidos dentro del sistema nervioso. El uso de esta técnica permitió descubrir la organización de tractos y neuropilos dentro de los ganglios de la cadena abdominal (Wigglesworth, 1959). Otra técnica muy usada fue la tinción con plata, con el propósito de estudiar las estructuras internas de los ganglios. Esta técnica tiñe el citoesqueleto, sin embargo, una desventaja de utilizar esta, es que no delinea las neuronas individuales de manera efectiva (Rowell, 1963). El ganglio cerebroide de este invertebrado se encarga de recibir información aferente provenientes de los ojos, antenas y piezas bucales, con el propósito de detectar luz, o sustancias químicas disueltas en el agua, y procesarla dicha información e integrar la respuesta fisiológica y conductual del cangrejo.

Las regiones del SN de estos crustáceos decápodos son: los pedúnculos oculares, que es en donde se encuentran los ojos compuestos, y se conectan a través del nervio óptico con el ganglio cerebroide (GC) (cerebro). El ganglio subesofágico (SOG) conectado con en GC, a través de las comisuras subesofágicas. La cadena ganglionar torácica, y la cadena ganglionar abdominal. El cerebro, en junto con SOG producen señales de comando que regulan el movimiento del cangrejo. La cadena ganglionar torácica, compuesta por cinco ganglios, tiene la función a regular las patas y las quelas principales (Edwards, 2017). El presente trabajo está en relación en la cadena ganglionar abdominal, compuesta por seis ganglios, y esta cadena regula los movimientos de extensión y flexión de la cola del cangrejo, y en el sexto ganglio se encuentran los fotorreceptores caudales.

## 1.2 Actividad locomotora del cangrejo

Estudios previos han informado que las neuronas motoras y las neuronas aferentes participan en la regulación del movimiento de las patas al momento del caminar del cangrejo. Anatómicamente, el cangrejo de río posee cuatro pares de patas torácicas, además de un par de quelípedos, los cuales utiliza para caminar en tierra firme; cada pata está inervada por 95 neuronas motoras (MN), de las cuales el 77% van a regular los movimientos de estas, mientras que el 23% restante de MN van a inervar a los músculos que actúan sobre las articulaciones distales de las patas (Bevengut et. al., 1996).

El principio de la actividad locomotora de estos invertebrados es la coordinación de los movimientos de las articulaciones dentro de cada pata, con el objetivo de poder alternar la carrera de fuerza y la carrera de retorno, así como el movimiento entre las patas para poder regular la postura durante el desplazamiento del cuerpo. Su movimiento está coordinado por una serie de interneuronas de coordinación (IN) las cuales coordinan el movimiento locomotor hacia adelante, y el movimiento locomotor hacia atrás. Estas interneuronas IN se encuentran reguladas por las neuronas moduladoras descendentes, y la estimulación eléctrica de estas, va a provocar distintos comportamientos motores, como el movimiento hacia adelante o hacia atrás, o la postura hacia arriba o hacia abajo de la pata (Bowerman y Larimer, 1976; Bowerman, 1977). Las neuronas moduladoras descendentes tienen sus cuerpos celulares en el cerebro, y se proyectan desde este, hasta los ganglios torácicos y abdominales, a través de las comisuras circunoesofágicas; al llegar a los ganglios torácicos y abdominales, provocan patrones de movimiento coordinados. Diversos estudios han mostrado que las neuronas motoras presentan una actividad tónica, en tanto que la actividad locomotora rítmica no se produce de forma espontánea (Cattaert y Edwards, 2017).

Otros estudios han logrado obtener patrones de movimiento ficticio, con el fin de estudiar el sistema de caminar de crustáceos, a través de la aplicación de sustancias o fármacos químicos, tales como la oxotremorina, la cual actúa sobre los receptores muscarínicos generando patrones de caminata sin que exista

movimiento de las patas. Además, esto también ha demostrado que la exposición a oxotremorina provoca que diferentes grupos de neuronas motoras muestren ritmos distintos, o que un solo grupo de neuronas motoras antagónicas permanezca activo. Estos mismos han llevado a proponer que la pata del cangrejo está comandada por una serie de generadores centrales de patrones (GCP) que van a coordinarse durante el movimiento de este (Cattaert et. al., 1995). Los GCP se definen como un grupo de neuronas centrales capaces de coordinarse para generar una salida motora en ausencia de una reacción sensorial. Su importancia puede relacionarse a otros elementos relevantes para la expresión o comportamiento rítmico en el cangrejo. Existe una gran cantidad de sustancias químicas que son capaces de regular a los GCP, entre ellos se encuentran los neurotransmisores clásicos como GABA, neuromoduladores como aminas como la histamina, y péptidos (Harris-Warrick y Marder, 1991). Se sabe que los GCP van a diferir dependiendo de la especie, así como del tipo de comportamiento de esta.

### 1.3 Ritmos circadianos en el cangrejo

Los ritmos circadianos corresponden a todo aquel cambio físico, conductual y mental que sigue a un ciclo cercano a las 24-h, y que es sincronizado por el ciclo de luz: oscuridad en el ambiente diurno de un organismo. Son principalmente regulados por la luz solar, y temperatura, entre otras variables fisicoquímicas externas, las cuales juegan un papel importante en la sincronización del reloj biológico interno (zeitgeber) de los organismos. Los relojes biológicos generan el (o los) mecanismo(s) que transmiten las señales de tiempo, es de naturaleza endógena en un organismo. Actualmente, conocemos las bases celulares y moleculares de la expresión rítmica de este sistema de biocronometría interna. Hay que señalar que los relojes biológicos y los ritmos circadianos no son lo mismo; los relojes biológicos son mecanismos internos de los seres vivos que controlan sus ritmos biológicos, mientras que los ritmos circadianos van a ser producto de los relojes biológicos, además de que estos son susceptibles de sincronizarse a los cambios cíclicos externos al organismo. Está demostrado que la intensidad de luz cambia durante

los ciclos luz: oscuridad, hablando particularmente del amanecer y el atardecer, lo que afecta el fotoperiodo el cual es dependiente de estos dos factores (Fanjul-Moles, ML. et. al. 2004).

En el cangrejo de río, los ritmos circadianos se manifiestan en la actividad locomotora, amplitud de la respuesta de los fotorreceptores retinianos, medidos con el electroretinograma (ERG), el movimiento de los gránulos pigmentarios del ojo compuesto, y en los cromatóforos tegumentarios, entre otras varias funciones del crustáceo (Sullivan et. al., 2009; Fanjul-Moles y Pietro-Sagredo, 2003; Rodríguez-Sosa et. al., 2008). Estos ritmos persisten aún bajo condiciones de oscuridad constante, por lo tanto, están bajo la una regulación de osciladores circadianos endógenos. Además, estos ritmos son susceptibles a las variaciones de los fotoperiodos a los que son expuestos, lo cual implica la actividad de los fotorreceptores no visuales (Lira-Oliver, 2018).

Los fotorreceptores son neuronas especializadas sensibles a la luz, que convierten la luz en señales que son enviadas al cerebro; en vertebrados estas se van a encontrar en la retina externa, en invertebrados, además de existir fotorreceptores en la retina, existen fotorreceptores extraretinianos que van a estar ubicados en partes específicas del cuerpo de estos; para los cangrejos de río estos fotorreceptores se clasifican en 3 tipos: 1) Ojo compuesto. 2) Fotorreceptores extraretinianos en el ganglio cerebroide. 3) Fotorreceptores caudales (FRC).

Los fotorreceptores caudales, los cuales son parte del objeto de estudio de este proyecto, son una única neurona no visual bilateral que responde directamente a la luz, y se encuentran en el 6º ganglio de la cadena ganglionar abdominal (Wilkens y Larimer 1972; Simon y Edwards 1990). El 6º ganglio contiene de 600 a 700 neuronas. El soma de FRC se encuentra en la parte anteroventral del ganglio, y sus ramificaciones dendríticas se proyectan hacia el lado contralateral. Estos fotorreceptores descubiertos utilizando registros electrofisiológicos y ensayos de comportamiento; los FRC muestran respuestas eléctricas a la estimulación directa de la luz, y provoca movimientos de las patas del cangrejo (Welsh 1934; Prosser 1934), pues el axón de este conecta con el ganglio supraesofágico, una estructura

que regula la generación de la ritmicidad circadiana (Barrera-Mera, 1976; Larimer y Smith, 1981; Page y Larimer, 1975a, b).

El cangrejo de río *Procambarus clarkii* (Girard) es una especie de crustáceo decápodo, que ha sido un modelo biológico utilizado en el estudio de los ritmos biológicos, puesto que expresa una amplia variedad de ritmos circadianos que son regulados por el sistema nervioso y neuroendocrino (Fanjul-Moles y Prieto-Sagredo, 2003; Rodríguez-Sosa et. al., 2008). Esta especie de cangrejo de río exhibe un ritmo bimodal en la actividad locomotora, con picos de actividad alrededor del inicio de las fases oscuridad y de luz y oscuridad, que se correlacionan con los cambios en la intensidad de luz al atardecer y al amanecer (Sullivan et. al., 2009). Los estudios descritos por diferentes autores (Fernández de Miguel y Aréchiga, 1994; Fuentes-Pardo et. al., 2003; Miranda-Anaya 2004; Page y Larimer 1972, 1975; Styrihave et. al., 2007; Viccon-Pale y Fuentes-Pardo, 1994) dieron a conocer que los cangrejos de río, estudiados bajo condiciones estándar de luz: oscuridad (12 h de luz seguidas de 12 h de oscuridad), muestran ritmos circadianos con su mayor actividad locomotora se encuentra en la fase de oscuridad, y estos movimientos tienen la cualidad de que tienen un patrón de actividad rítmico de tipo oscilatorio. Al igual que con los GCP, los ritmos circadianos van a variar dependiendo la especie, por ejemplo, mientras el pico máximo de actividad para *P. clarkii* se ubica en los puntos cercanos al anochecer y al amanecer, en otras especies como *Cherax destructor* su actividad es más robusta durante el día. Además, el patrón de actividad en *P. clarkii* es bimodal (Fernández de Miguel & Aréchiga, 1994), mientras que para *C. destructor*, este patrón es unimodal, presentando un único pico al anochecer (Sullivan et. al., 2009).

#### 1.4 La fotosensibilidad de los fotoreceptores caudales del cangrejo

El fotoreceptor caudal (FRC) es una neurona primaria fotosensible localizada bilateralmente, que muestra una descarga espontánea de potenciales de acción en la oscuridad, y presenta una actividad fásico-tónica en respuesta directa a los estímulos luminosos. El FRC también actúa como una interneurona que recibe la

estimulación mecánica transinápticamente, desde los mecano-receptores localizados en la cola del cangrejo. Estas neuronas fotosensibles envían su proyección axónica hacia el ganglio cerebroide (cerebro).

Una de las hipótesis que concierne al estudio de los relojes circadianos, es a la existencia de un sistema circádico de marcapasos. La investigación de Rodríguez-Sosa et. al.. (2008) se centró en el papel que ocupan los FRC como parte de estos sistemas de marcapasos, comparando la actividad espontánea en la oscuridad y la actividad inducida por la luz, en el 6º ganglio abdominal en condiciones de órgano aislado, y describieron dos ritmos circadianos, el de la actividad espontánea tuvo periodo de 24.7 h, y el de la fotorespuesta, el periodo tuvo 24.24 h. No obstante, la forma en que estos marcapasos interactúan para generar una ritmicidad sincrónica en los FRC del 6º ganglio es aún desconocida. Más aún, otros estudios sugieren que la sección del axón de ambos FRC desfasa el ritmo diurno de actividad locomotora del cangrejo de río *P. clarkii* (Rodríguez-Sosa et. al., 2012).

### 1.5 Asimetría funcional en invertebrados

La lateralización consiste en la especialización funcional de los lados derecho e izquierdo del sistema nervioso. Hasta finales del siglo XX, se pensaba que esta característica era exclusiva del cerebro de los seres humanos. Sin embargo, distintas investigaciones realizadas a inicios del siglo XXI de Rogers y Andrew, (2002), Vallortigara y Rogers (2005) y Vallortigara et. al. (2011), dieron a conocer que la asimetría no se limita únicamente a seres humanos, sino que está presente en toda clase de animales vertebrados.

Para poder entender la evolución de la asimetría cerebral, fue necesario investigar la posible existencia de lateralización en organismos invertebrados, debido a que el sistema nervioso de estos es más simple. Frasnelli et. al.. (2012), estudiaron la asimetría en invertebrados, donde mostraron la existencia de asimetrías sensoriales y motoras en el comportamiento de estos, así como asimetrías en el sistema nervioso. Por ejemplo, en las abejas se ha documentado la lateralización del sentido del olfato, al momento de aprender a asociar un olor con una

recompensa de azúcar, lo cual se debe, en parte, a las diferencias existentes en la morfología de sus antenas, donde se ha documentado preferencia en el lado derecho. Otro ejemplo, los abejorros también parecen mostrar asimetría en su comportamiento en la dirección que prefieren cuando vuelan alrededor de los flósculos; pues al examinar cuatro especies de estos insectos, encontraron que en tres de ellas tuvieron preferencia por hacer un recorrido en contra de las manecillas del reloj, mientras que en la especie restante no existió preferencia alguna. Otro caso interesante fue el de la asimetría encontrada en grillos, ya que esta está involucrada directamente con la orientación de las alas durante el canto de los grillos machos que producen para poder atraer hembras, ya que estos generalmente usan la orientación del ala hacia la derecha que hacia la izquierda con el fin de producir una estridulación de alta intensidad, pues si esta orientación del ala se invierte, o sea, el ala izquierda se encuentra sobre la derecha, durante la estridulación, prácticamente no se produce ningún sonido, aún cuando las alas son morfológicamente idénticas; esta inversión en la posición del ala no ocurre debido a la intervención de una placa de vellosidades en la región subcostal de las alas del grillo, ya que la función de estas es precisamente prevenir la inversión de las alas durante la estridulación (Elliot y Koch, 1983).

Mientras que, para el caso de los cangrejos de río, los primeros estudios de lateralización se enfocaron en la respuesta de escape y a la asimetría morfológica de estos. Tobo et. al. (2011), encontraron la presencia de una asimetría, la cual sugiere que la población de *P. clarkii* se compone de dos tipos distintos de individuos: en el primero, el lado derecho del caparazón fue más grande que el lado izquierdo, y para el otro tipo, donde el lado izquierdo del caparazón era más grande. Con base a esto, los cangrejos fueron divididos en dos grupos, uno en donde los animales saltaron frecuentemente hacia la izquierda y otro donde los animales saltaron hacia la derecha. Así mismo, se observó también una distribución bimodal en la dirección de conductas de escape inducidas por un estímulo táctil en diez individuos estudiados, lo que puede estar relacionado con las interacciones depredador-presa.

Se ha sugerido que las asimetrías existentes de los organismos se originan durante la embriogénesis. En *P. clarkii*, el sexto ganglio abdominal se desarrolla a partir de dos neurómeros embrionarios (Kondoh e Hisada 1986; Mulloney et. al. 2003), y los axones de los FRC se encuentran en el cordón ventral, en el área 82 de Wiersma para el hemiconectivo izquierdo, y en el área 79 del borde derecho del mapa del cordón del cangrejo de río (Hermann, 1972). Si bien, la fisiología de estas neuronas fotosensibles quedó establecida con las investigaciones previas, las propiedades comparativas entre el fotoreceptor caudal izquierdo (FRC-I) y derecho (FRC-D), recientemente fueron estudiadas más a detalle. Pacheco-Ortiz et. al. (2018) estudiaron la tasa de frecuencia de disparo, mediante registros extracelulares de los FRC-I y FRC-D de manera simultánea, donde encontraron asimetría tanto en la actividad espontánea como en la actividad inducida por luz blanca (700 lux, 4 s). Del grupo de ganglios analizados (n=10) encontraron que en el 70% de estos, existe una mayor respuesta a la luz en el FRC-D respecto al FRC-I, donde la mediana del primero fue del 56% (IQR=51), mientras que el segundo tuvo una mediana del 42% (IQR=46). Sugiriendo que el FRC del lado derecho es más sensible a la luz blanca.

Kingston y Cronin (2015) describieron la expresión de dos fotopigmentos retinianos en el cangrejo de río *P. clarkii*, las cuales tienen 2 longitudes de onda, una corta (SWS) de 440 nm (luz azul) y una larga (LWS) que llega a 530 nm (luz verde). La transcripción de estas proteínas no se restringe únicamente al 6° ganglio, sino que pueden producirse en otras regiones del sistema nervioso central. Estos autores sugieren que estas dos proteínas opsinas participan en la fotorecepción en el 6° ganglio abdominal. Sánchez-Hernández et. al. (2018), mediante el uso de registros extracelulares simultáneos del FRC-I y el FRC-D, hemos caracterizado la respuesta electrofisiológica del FRC-I y el FRC-D, a la iluminación monocromática azul y verde, y hemos propuesto que ambos fotoreceptores responden a ambas longitudes de onda, y estas neuronas extraretinianas no visuales, muestran además una asimetría en su fotorespuesta para ambas longitudes de onda (Sánchez-Hernández et. al., 2019).

## 1.6 Planteamiento del problema, y justificación del presente estudio

La fotosensibilidad tiene un papel regulador de la actividad locomotora y neuronal del cangrejo de río; pues como se sabe, en otros modelos biológicos, la luz monocromática modula los ritmos circadianos a través de las vías de los fotoreceptores no visuales (Lira-Oliver, 2018; Tosini et. al., 2016). Como se mencionó anteriormente, los FRC actúa como un marcapasos circádico en el cangrejo de río, y también es un sistema de fotorecepción propuesto para sincronizar el ritmo de actividad locomotora (Rodríguez-Sosa et. al., 2008; 2012). Lo anterior, nos plantea la posibilidad de explorar el papel funcional de los fotoreceptores caudales derecho e izquierdo en la integración de la respuesta locomotora del cangrejo *P. clarkii*, inducida por la luz monocromática azul o verde. Puesto que no existen estudios sobre el efecto de ambas iluminaciones monocromáticas sobre la actividad locomotora del cangrejo de río, y tampoco conocemos el papel funcional de los fotoreceptores caudales derecho e izquierdo, en la actividad locomotora inducida por cada luz monocromática. Más aún, en estudios previos, hemos sugerido, con criterios electrofisiológicos, una posible asimetría funcional entre el FRC-I y el FRC-D. Pues como se describió anteriormente, el axón de estos fotoreceptores caudales proyectan desde el 6º abdominal ganglio hacia la cadena ganglionar torácica y ganglio supraesofágico, que son estructuras del sistema nervioso central, las cuales participan en la actividad locomotora del cangrejo (Edwards, 2017).

Motivo por lo cual, en el presente trabajo analizamos el efecto de la luz monocromática azul y verde en la respuesta locomotora del cangrejo de río *P. clarkii*, con el propósito de evidenciar la participación de cada uno de los dos fotoreceptores caudales. Por lo cual, el diseño experimental incluirá los cangrejos con la cadena ganglionar abdominal intacta, y animales con un tratamiento de falsa lesión, así como los cangrejos experimentales con la sección microquirúrgica de ambos tractos nerviosos conectivos, o con sección de uno de los dos tractos conectivos, el izquierdo o el derecho.

## 2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis:

La respuesta locomotora del cangrejo *Procambarus clarkii* a los pulsos de luz monocromática azul y verde está mediada por los fotoreceptores caudales.

Objetivo General:

Describir el efecto de la sección axónica del fotoreceptor caudal izquierdo, del fotoreceptor caudal derecho, y la de ambos fotoreceptores sobre la respuesta locomotora del cangrejo, inducida por los pulsos de luz monocromática azul o verde.

Objetivos Particulares:

- 1) Evaluar la respuesta locomotora de cangrejos adultos *P. clarkii*, a la aplicación de pulsos de luz monocromática azul y verde.
- 2) Registrar el desplazamiento (cm) y la velocidad (cm/s) en la locomoción del cangrejo, en las condiciones arriba mencionadas, mediante el uso del software denominado "***Crayfish-Tracking Motion Vision***" (CTMV).

### 3. MATERIALES Y MÉTODO

#### 3.1 Animales

Se utilizaron cangrejos adultos *Procambarus clarkii* con pesos de 20 a 30 g, y longitud del caparazón de 9 a 12 cm. Los animales fueron adquiridos de un proveedor local y se mantuvieron en el Laboratorio de Cronobiología de la Facultad de Medicina, UNAM. Los cangrejos estuvieron colocados en recipientes con agua, y burbujeo de aire durante dos semanas previas a los experimentos, con un programa de ciclos de luz-oscuridad de 12:12 horas, con una intensidad de luz blanca de 560 lux durante el período diurno a una temperatura ambiente ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Los animales tuvieron libre acceso a verduras y pescado seco como alimento (véase Fig. 1). El cuidado de los cangrejos fue de acuerdo con las recomendaciones de la Society for Neuroscience (2018) (Rodríguez-Sosa et. al., 2016, Pacheco-Ortiz et. al., 2018). Se manejó un grupo de 49 ejemplares de cangrejos adultos *Procambarus clarkii* distribuidos en 5 grupos, como se describe en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Distribución de los cangrejos *P. clarkii*, agrupados según las condiciones experimentales que se proponen en el presente estudio.

Grupo	Tratamiento experimental	Fotoestimulación con luz monocromática:	
		Azul	Verde
1	Intacto	1A (n=5)	1B (n=5)
2	Falsa Lesión (sham)	2A (n=6)	2B (n=6)
3	Seccionados en ambos tractos axónicos de los Fotorreceptores Caudales	3A (n=5)	3B (n=4)
4	Seccionados del Tracto Axónico del Fotorreceptor Caudal Izquierdo	4A (n=4)	4B (n=4)
5	Seccionados del Tracto Axónico del Fotorreceptor Caudal Derecho	5A (n=5)	5B (n=5)

### 3.2 Cirugía experimental

Los cangrejos se anestesiaron por inmersión en agua a 4-5°C. La cirugía experimental consistió en seccionar por microdissección la cadena ganglionar abdominal del cangrejo entre el 5° y el 6° ganglio, mediante el uso de un microscopio estereoscópico (Nikon), y con ayuda de instrumental de microcirugía y una microcuchilla fabricada con tubo de vidrio, se hizo un corte del tracto conectivo del lado izquierdo, del lado derecho, o de ambos lados. El grupo de falsa lesión (sham) fue anestesiado, y se abrió una ventana en la quitina ventral, y se abrió el tejido conectivo sin seccionar los axones (véase Figura 1). Luego, el corte fue sellado con un pegamento acrílico (cianoacrilato). Posteriormente, los cangrejos se trasladaron al bioterio para su recuperación de la anestesia y observación.

Los grupos con sección axónica (3) (4) y (5) se trataron de manera similar: fueron anestesiados, se microdisecó el tracto conectivo entre 5° y el 6° ganglio, y se seccionó la cadena abdominal, en donde se encuentran los axones de los fotoreceptores preestablecidos según correspondiera. Finalmente, los cangrejos fueron llevados al bioterio para su recuperación de la anestesia. Los animales permanecieron en el bioterio de una a dos semanas, y posteriormente se compararon los efectos de la cirugía en la respuesta locomotora provocada por los pulsos de luz (véase Cuadro 1).

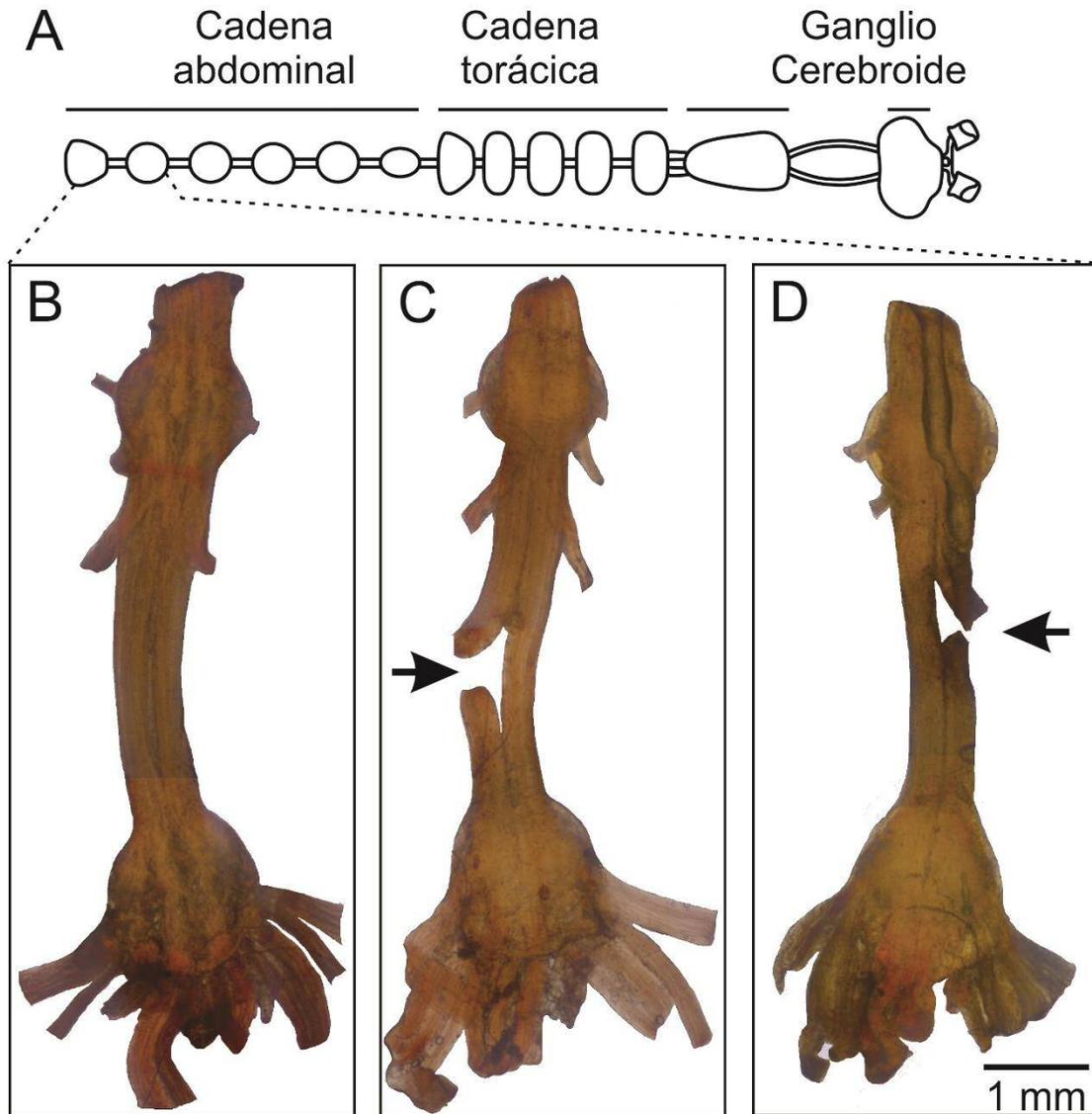


Figura 1. El sistema nervioso del cangrejo: sección microquirúrgica del tracto conectivo entre el 5° y 6° ganglio abdominal. A. Representación esquemática del sistema nervioso del cangrejo. Donde se muestra la organización de la cadena abdominal, la cadena torácica, las comisuras entre el ganglio subesofágico y el ganglio supraesofágico (cerebro), además de los pedúnculos oculares. Las líneas punteadas muestran el sitio de la sección microquirúrgica del tracto conectivo entre el 5° y 6° ganglio abdominal. B) Microfotografía que muestra al 5° y 6° ganglio abdominal con los tractos conectivos íntegros. C) Microfotografía del tracto conectivo del lado izquierdo seccionado entre el 5° y 6° ganglio abdominal; la flecha indica el sitio de la sección. D) Microfotografía que muestra la sección del tracto conectivo del lado derecho; la flecha indica el sitio de la sección.

### 3.3 Procedimiento de medición de la actividad locomotora del cangrejo *P. clarkii*

Los cangrejos se adaptaron a la oscuridad durante 1 hora. Ulteriormente, se transfirieron a un contenedor de 44 x 33 x 20 cm, a temperatura ambiente ( $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ), lleno con 7.8 L de agua. Las observaciones fueron efectuadas con el hardware colocado en el interior una caja de acrílico de 68 x 92 x 89 cm, forrada con plástico blanco mate en su interior. El piso de este contenedor tenía una superficie rugosa.

En este acuario, el cangrejo recibió pulsos de luz azul o verde (LED, 40 Watts, 300 lm) durante 5 minutos, con intervalos de 15 minutos de oscuridad entre cada pulso, y esta maniobra fue repetida en un total de 4 ocasiones. Capturamos as imágenes a 1 cuadro por segundo con una videocámara colocada a una distancia de 68 cm, **mediante el uso del software ‘Crayfish–Tracking Motion Vision’ (CTMV)** (Rosas Fonseca et. al., 2018) (véase Figura 2).

Las imágenes capturadas fueron procesadas con el mismo software CTMV, el cual tuvo como función, localizar el centroide del cangrejo en las coordenadas X, Y. Lo cual permitió calcular la distancia recorrida, la velocidad y la aceleración del cangrejo; estos datos numéricos se guardaron automáticamente en la computadora como archivos de texto (\*.txt), para transferirse a la hoja de cálculo OriginPro (OriginLab, Northampton, MA), para su análisis y representación gráfica (véase Figura 3).

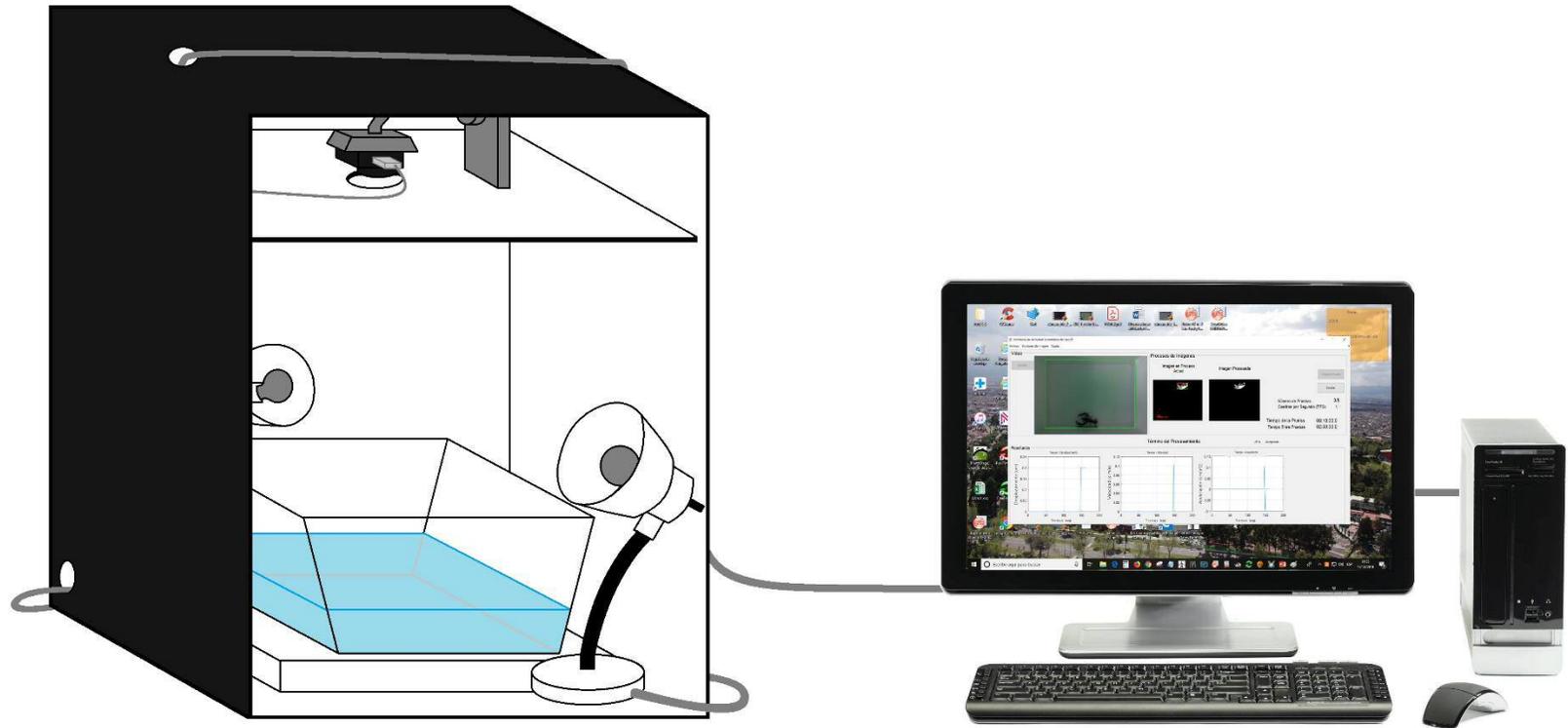


Figura 2. Representación esquemática del equipo de registro de la actividad locomotora del cangrejo. El equipo está compuesto por una caja de acrílico forrada al interior con plástico blanco mate, 2 lámparas con focos LED de color azul o verde de 40 Watts en su interior, y un acuario, donde es observada la actividad locomotora del cangrejo, a través de una videocámara de color colocada a 68.5 cm de distancia del acuario. **Mediante el uso del software 'Crayfish-Tracking Motion Vision', las imágenes fueron capturadas a 1 cuadro por segundo, y analizadas con este mismo software en el equipo de cómputo.**

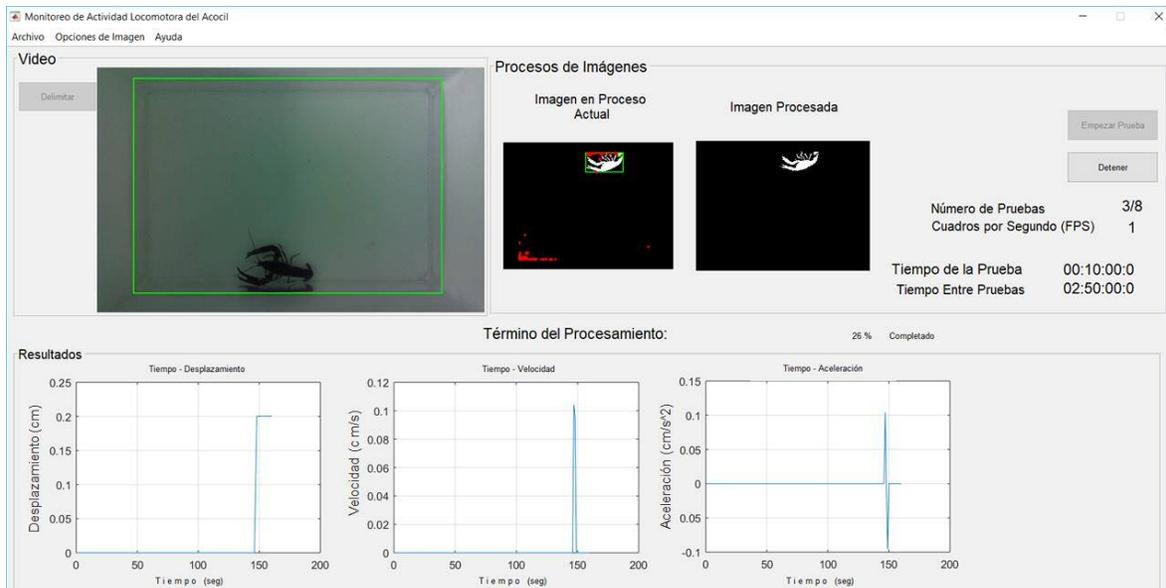


Figura 3. Captura de pantalla de la ventana del software CTMV, utilizado para observar y medir el desplazamiento del cangrejo en el acuario, a través de una videocámara acoplada a la computadora. Se observa al animal en el panel superior izquierdo y en los paneles subsecuentes el tratamiento de las imágenes y la representación de los parámetros analizados (desplazamiento (cm) vs tiempo (s), velocidad (cm/s) y aceleración (cm/s<sup>2</sup>)).

### 3.4 Análisis estadístico

Los datos experimentales fueron analizados mediante el uso de la estadística inferencial. Se analizaron los datos de desplazamiento total y la distribución de la frecuencia relativa de las velocidades, donde se analizaron en bloques de velocidad de 1 cm/s, en un intervalo de 0 a 3 cm/s. Para ambos análisis se realizó lo siguiente:

- 1.– Se realizó la selección y asignación aleatoria de los cangrejos por estudiar.
- 2.– Se identificó la distribución de los datos obtenidos. Utilizamos la prueba de Shapiro–Wilk para datos con una ‘n’ total menor a 50, o la prueba de Kolmogorov–Smirnov, para datos con una ‘n’ total mayor a 50.

Dependiendo de si la distribución de los datos fue o no paramétrica, se utilizó un ANOVA de Medidas Repetidas, para datos paramétricos, con una prueba *Post hoc*

de Dunnett, o ANOVA Friedman, para datos no paramétricos, con una prueba *Post hoc* de Wilcoxon-Nemenyi-McDonald-Thompson.

3.– Por último, mediante las pruebas de ANOVA, se compararon diferentes parámetros de cada grupo. Se utilizó ANOVA de una vía para datos paramétricos, con un *Post hoc* de Fisher, mientras que, para datos no paramétrico, utilizamos un ANOVA de Kruskal Wallis, con un *Post hoc* de Mean Rank-Diff.

Se estableció un nivel de significancia  $p \leq 0.05$ .

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Efecto de la luz azul en la actividad locomotora del grupo de cangrejos control: intactos y con falsa lesión

*Animales intactos.* Se midió la actividad de un grupo conformado por 5 cangrejos, Sin embargo, para el análisis del desplazamiento, solo se incluyeron 4 cangrejos, cuya distancia recorrida cumplieran con el criterio de normalidad. Durante el primer ensayo de 5 minutos, el grupo de animales intactos tuvieron una latencia de 4.2 ( $\pm 2.5$ ) s para iniciar su desplazamiento, y desde el sitio de su colocación inicial, usualmente se dirigían hacia la pared frontal del contenedor. Luego, los cangrejos caminaban por la zona periférica del acuario, y en ocasiones se detenían por momentos, frecuentemente en las esquinas del contenedor. En el primer ensayo, los cangrejos intactos con iluminación azul tuvieron su máximo desplazamiento, que fue de 351 ( $\pm 41$ ) cm, con una velocidad promedio de 1.164 ( $\pm 1.101$ ) cm/s. En los subsiguientes minutos de observación, que corresponden al 2°, 3°, y 4° pulso de luz azul aplicados, respectivamente, notamos que esta actividad locomotora disminuía paulatinamente, en relación al tiempo de observación. La prueba estadística de normalidad Shapiro-Wilk para evaluar la distancia recorrida (cm) mostró una distribución normal. Subsecuentemente, se aplicó un ANOVA de medidas repetidas y la prueba post hoc de Dunnett, para determinar estadísticamente la dependencia de la distancia recorrida (cm) de los cangrejos con el tiempo (min). Estos resultados se describen con detalle en la Tabla 1.

Tabla 1. Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo intacto estimulado con luz monocromática azul.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-MR de una vía	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Intacto	5	351 (41)	4	0.950	0.496	33.263	0.010	5 vs. 25	1.230	0.500
	25	312 (49)						5 vs. 45	3.730	0.012
	45	233 (49)						5 vs. 65	5.985	4.846E-4
	65	162 (58)								

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Dunnett Test.

*Animales con falsa lesión (sham).* Para este grupo de cangrejos testigo se midió una población de 6 cangrejos, de los cuales se tomaron en cuenta 5 individuos para el análisis estadístico; el criterio de exclusión fue el mismo que se mencionó en el párrafo anterior. Cabe destacar, que este grupo de cangrejos testigos, mostró una actividad locomotora similar al grupo testigo anterior. La latencia para iniciar su actividad locomotora fue de 2.83 ( $\pm 1.8$ ) s. Este grupo mostró en el primer ensayo, un desplazamiento de 397 ( $\pm 45$ ) cm, con una velocidad de 1.378 ( $\pm 0.094$ ) cm/s. La prueba estadística de normalidad Shapiro-Wilk para evaluar la distancia recorrida (cm) mostró una distribución normal. Subsecuentemente, se aplicó un ANOVA de medidas repetidas y la prueba post hoc de Dunnett, para determinar estadísticamente la dependencia de la distancia (cm) recorrida de los cangrejos sham con el tiempo (min). Estos resultados se describen con detalle en la Tabla 2.

Tabla 2. Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con falsa lesión estimulado con luz monocromática azul.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-MR de una vía	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Falsa Lesión	5	397 (45)	5	0.952	0.398	150.545	2.534E-4	5 vs. 25	2.077	0.142
	25	311 (34)						5 vs. 45	3.423	0.013
	45	255 (39)						5 vs. 65	3.339	0.015
	65	259 (19)								

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Dunnett Test.

Expresado en otras palabras: los datos de desplazamiento en ambos grupos cumplieron los supuestos de normalidad, para el grupo intacto la prueba de normalidad fue de 0.95,  $p > 0.05$  y para la falsa lesión, tuvo un valor de 0.952,  $p > 0.05$ , por lo cual se analizaron con una prueba de ANOVA de medidas repetidas (MR) de una vía para determinar si los datos fueron estadísticamente diferentes en función del tiempo, lo cual fue corroborado por la prueba, arrojando un valor de 33.263,  $p < 0.01$  para el grupo intacto y de 150.545,  $p < 0.001$  para el grupo con falsa lesión.

Al ser estadísticamente significativos los valores de desplazamiento en función del tiempo, se procedió a hacer la comparación de los datos de 5 minutos contra los

datos del resto de las pruebas realizadas, estos mostraron que, en ambos grupos, los datos de los 5 minutos son estadísticamente diferentes comparados contra los datos de los 45 minutos ( $|t|=3.730$ ,  $p < 0.05$  para el grupo intacto,  $|t|=3.423$ ,  $p < 0.05$  para falsa lesión) y contra los datos de 65 minutos ( $|t|=5.985$ ,  $p < 0.001$  para el grupo intacto,  $|t|=3.339$ ,  $p < 0.05$  para falsa lesión).

#### 4.2 Efecto de la luz azul en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección completa de la cadena abdominal

Este grupo fue conformado por 5 cangrejos, a los cuales se les seccionó en su totalidad la cadena ganglionar abdominal; el grupo con sección completa mostró, al igual que los grupos intacto y sham, una disminución paulatina en su desplazamiento total recorrido (véase Tabla 3). La sección de la totalidad del tracto conectivo, tuvo una actividad locomotora alta al inicio de los experimentos, con un desplazamiento inicial máximo de 307 ( $\pm 104$ ) cm, con una velocidad promedio de 0.653 ( $\pm 0.066$ ) cm/s.

No obstante, cuando se compara desplazamiento total recorrido de este grupo en el tiempo contra los grupos intacto y sham, este fue menor en cada uno de los ensayos realizados (véase Fig. 4).

Tabla 3. Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con la sección completa de la cadena abdominal estimulado con luz monocromática azul.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA Friedman	Prob>Chi-Cuadrada	Comparación de pares (b)	z	Prob> p
Cadena abdominal seccionada	5	307 (104)	5	0.858	0.007	10.68	0.0136	5 vs. 25	2.425	0.320
	25	249 (93)						5 vs. 45	4.157	0.017
	45	186 (77)						5 vs. 65	3.810	0.036
	65	156 (61)								

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Wilcoxon-Nemenyi-McDonald-Thompson Test.

Al hacer la prueba de Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de los datos, se obtuvo que su valor es de 0.858,  $p < 0.05$ , es decir, los datos no son normales; se determinó que las pruebas son estadísticamente diferentes en función del tiempo, usando ANOVA Friedman, el cual tuvo un valor de  $p < 0.05$ .

Finalmente se compararon los datos de 5 minutos contra el resto del tiempo utilizando la prueba de Wilcoxon-Nemenyi-McDonald-Thompson, los cuales mostraron diferencia significativa en la comparación del desplazamiento medido a los 5 vs. a los 45 minutos ( $z=4.157$ ,  $p < 0.05$ ) y vs. el desplazamiento a los 65 minutos ( $z=3.810$ ,  $p < 0.05$ ).

Tabla 4. Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con la sección total de la cadena abdominal vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática azul.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{X}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía	Prob>F
Intacto	5	351 (41)	4	0.977	0.882	0.400	0.679
Falsa Lesión (sham)		397 (45)	5	0.982	0.946		
Cadena abdominal seccionada		307 (104)	5	0.862	0.237		
Intacto	25	312 (49)	4	0.872	0.308	0.305	0.743
Falsa Lesión (sham)		311 (34)	5	0.851	0.198		
Cadena abdominal seccionada		249 (93)	5	0.932	0.610		
Intacto	45	233 (49)	4	0.826	0.159	0.388	0.687
Falsa Lesión (sham)		255 (39)	5	0.978	0.922		
Cadena abdominal seccionada		186 (77)	5	0.902	0.421		
Intacto	65	162 (58)	4	0.895	0.405	1.442	0.278
Falsa Lesión (sham)		259 (19)	5	0.933	0.620		
Cadena abdominal seccionada		156 (61)	5	0.824	0.126		

(a) Shapiro-Wilk test.

A continuación, se hizo una comparación en triadas de los datos de desplazamiento del grupo de cangrejos con la sección completa de la cadena ganglionar abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, para determinar si hubo diferencias significativas entre los 3 tratamientos en los 4 tiempos (véase Fig. 4); primeramente, con la prueba de Shapiro-Wilk se destacó que todos los datos, en las 4 mediciones efectuadas, cumplieron los supuestos de normalidad ( $p > 0.05$ ).

Después, se hizo la prueba de ANOVA de una vía para hacer la comparación en triadas, donde se encontró que las pruebas no son estadísticamente significativas a ningún tiempo cuando se comparan entre ellas, obteniendo valores de 0.400,  $p > 0.05$  a los 5 minutos, 0.305,  $p > 0.05$  a los 25 minutos, 0.388,  $p > 0.05$  a los 45 minutos y 1.442,  $p > 0.05$  para 65 minutos.

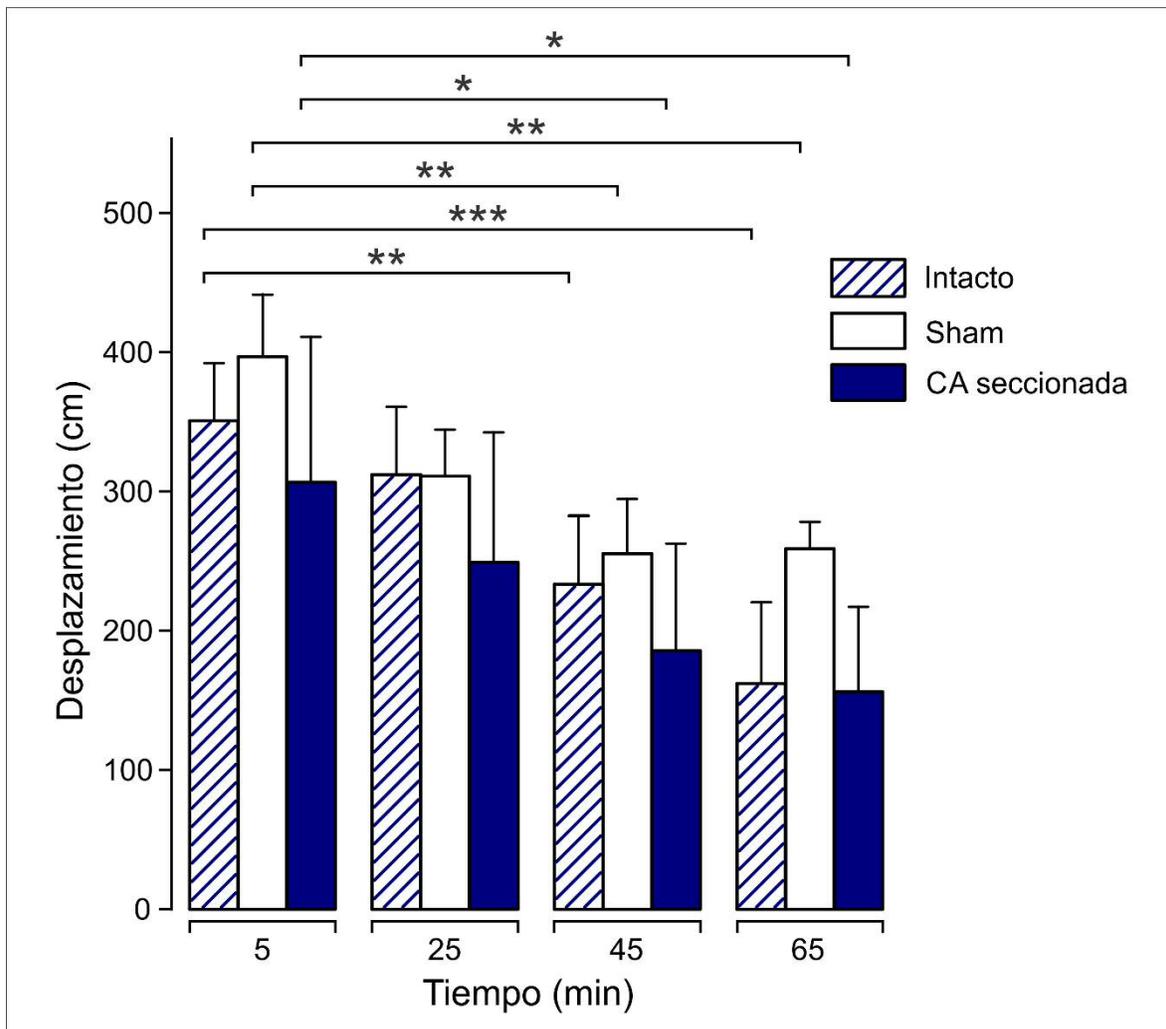


Figura 4. Efecto de la sección completa del tracto conectivo en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática azul durante una hora. En la ordenada, el desplazamiento (cm) del cangrejo en el lapso de 5 minutos a partir de la fotoestimulación. En la abscisa, el curso temporal (min) de la respuesta del cangrejo observada con cada estímulo luminoso. La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba estadística de ANOVA de una sola vía.

\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$

Tabla 5. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 5 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor- $p$	ANOVA- de una vía	Prob> $F$
Intacto	0	39 (8)	5	0.998	0.998	2.142	0.157
Falsa Lesión (sham)		30 (3)	6	0.840	0.131		
Cadena abdominal seccionada		51 (10)	5	0.867	0.253		
Intacto	1	26 (4)	5	0.854	0.209	0.104	0.902
Falsa Lesión (sham)		30 (6)	6	0.864	0.203		
Cadena abdominal seccionada		27 (6)	5	0.853	0.20533		
Intacto	2	27 (7)	5	0.983	0.948	3.278	0.070
Falsa Lesión (sham)		30 (3)	6	0.832	0.112		
Cadena abdominal seccionada		14 (5)	5	0.919	0.523		
Intacto	3	8 (3)	5	0.915	0.497	0.111	0.895
Falsa Lesión (sham)		10 (4)	6	0.893	0.334		
Cadena abdominal seccionada		8 (5)	5	0.803	0.086		

(a) Shapiro-Wilk test.

El análisis de la velocidad para los primeros 5 minutos de registro, tuvo datos normales en los 4 bloques de datos ( $p > 0.05$ ), sin embargo, la prueba de ANOVA mostró que no existe diferencia estadísticamente significativa al hacer la comparación en triadas de los datos del grupo con sección de cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión en ninguna de las velocidades. No hubo ningún valor de la prueba de ANOVA que tuviera valor de  $p < 0.05$ . (véase Figura 5).

Tabla 6. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 25 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	29 (6)	5	0.964	0.839	4.887	0.087
Falsa Lesión (sham)		36 (11)	6	0.789	0.046		
Cadena abdominal seccionada		63 (13)	5	0.909	0.465		
Intacto	1	36 (7)	5	0.913	0.486	2.090	0.163
Falsa Lesión (sham)		26 (6)	6	0.957	0.801		
Cadena abdominal seccionada		19 (5)	5	0.926	0.567		
Intacto	2	29 (8)	5	0.867	0.256	1.961	0.180
Falsa Lesión (sham)		30 (6)	6	0.967	0.874		
Cadena abdominal seccionada		13 (6)	5	0.893	0.374		
Intacto	3	6 (4)	5	0.768	0.043	0.780	0.677
Falsa Lesión (sham)		8 (4)	6	0.788	0.046		
Cadena abdominal seccionada		5 (3)	5	0.789	0.066		

(a) Shapiro-Wilk test.

En el análisis de la frecuencia de velocidades a los 25 minutos de registro, encontramos que los 3 grupos de cangrejos tuvieron datos normales para las 3 primeras velocidades ( $p > 0.05$ ), a excepción del bloque de velocidad 3 cm/s, donde la prueba de normalidad para los grupos intacto y con falsa lesión, presentaron valores de  $p < 0.05$ , por lo tanto, se determinó que este bloque no cumplió los supuestos de normalidad.

No obstante, los resultados de las pruebas de ANOVA determinaron que no existe diferencia significativa en la comparación entre los 3 grupos en ningún bloque de velocidad, obteniendo valores de  $p > 0.05$  en las 4 velocidades (véase Figura 5).

Tabla 7. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 45 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	36 (7)	5	0.874	0.2824	1.985	0.177
Falsa Lesión (sham)		53 (10)	6	0.864	0.203		
Cadena abdominal seccionada		66 (12)	5	0.969	0.865		
Intacto	1	37 (6)	5	0.930	0.596	2.663	0.107
Falsa Lesión (sham)		24 (7)	6	0.943	0.687		
Cadena abdominal seccionada		17 (4)	5	0.953	0.762		
Intacto	2	23 (8)	5	0.886	0.337	0.794	0.473
Falsa Lesión (sham)		17 (4)	6	0.921	0.514		
Cadena abdominal seccionada		12 (6)	5	0.901	0.415		
Intacto	3	4 (3)	5	0.654	0.003	0.247	0.884
Falsa Lesión (sham)		6 (5)	6	0.619	7.821E-4		
Cadena abdominal seccionada		5 (3)	5	0.807	0.092		

(a) Shapiro-Wilk test.

A los 45 minutos, el análisis correspondiente mostró, como en la medición de los 25 minutos, normalidad en los datos para bloques de velocidad 0, 1 y 2 cm/s, mientras que para el bloque de 3 cm/s, no hubo datos normales en los grupos intacto y de falsa lesión, es decir, el bloque en su totalidad no fue de datos normales. Tampoco existió diferencia significativa en la comparación en triadas de los tratamientos en ninguno de los 4 bloques de velocidad, siendo todos los valores de  $p > 0.05$ .

Tabla 8. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 65 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	63 (14)	5	0.950	0.735	3.123	0.078
Falsa Lesión (sham)		38 (3)	6	0.953	0.766		
Cadena abdominal seccionada		68 (10)	5	0.870	0.266		
Intacto	1	26 (8)	5	0.919	0.522	0.856	0.447
Falsa Lesión (sham)		30 (5)	6	0.857	0.178		
Cadena abdominal seccionada		19 (4)	5	0.857	0.219		
Intacto	2	11 (6)	5	0.730	0.019	5.237	0.073
Falsa Lesión (sham)		27 (4)	6	0.950	0.740		
Cadena abdominal seccionada		9 (5)	5	0.869	0.263		
Intacto	3	1 (0.4)	5	0.736	0.022	3.018	0.221
Falsa Lesión (sham)		6 (3)	6	0.814	0.078		
Cadena abdominal seccionada		3 (2)	5	0.656	0.003		

(a) Shapiro-Wilk test.

Finalmente, en el análisis de la velocidad a los 65 minutos, los bloques de velocidad 0 y 1 cm/s tuvieron datos normales en todos los grupos de cangrejos; los bloques de 2 y 3 cm/s no tuvieron datos normales en el grupo de cangrejos intactos (0.730,  $p < 0.05$  en velocidad 2 cm/s, y 0.736,  $p < 0.05$  con velocidad 3 cm/s), así como el grupo de cangrejos con sección total de la cadena abdominal a velocidad 3 cm/s (0.656,  $p < 0.01$ ). De igual forma, la comparación en triadas de los tratamientos dio a conocer que no existe diferencia significativa entre los grupos en ninguno de los bloques de velocidad (véase Figura 5).

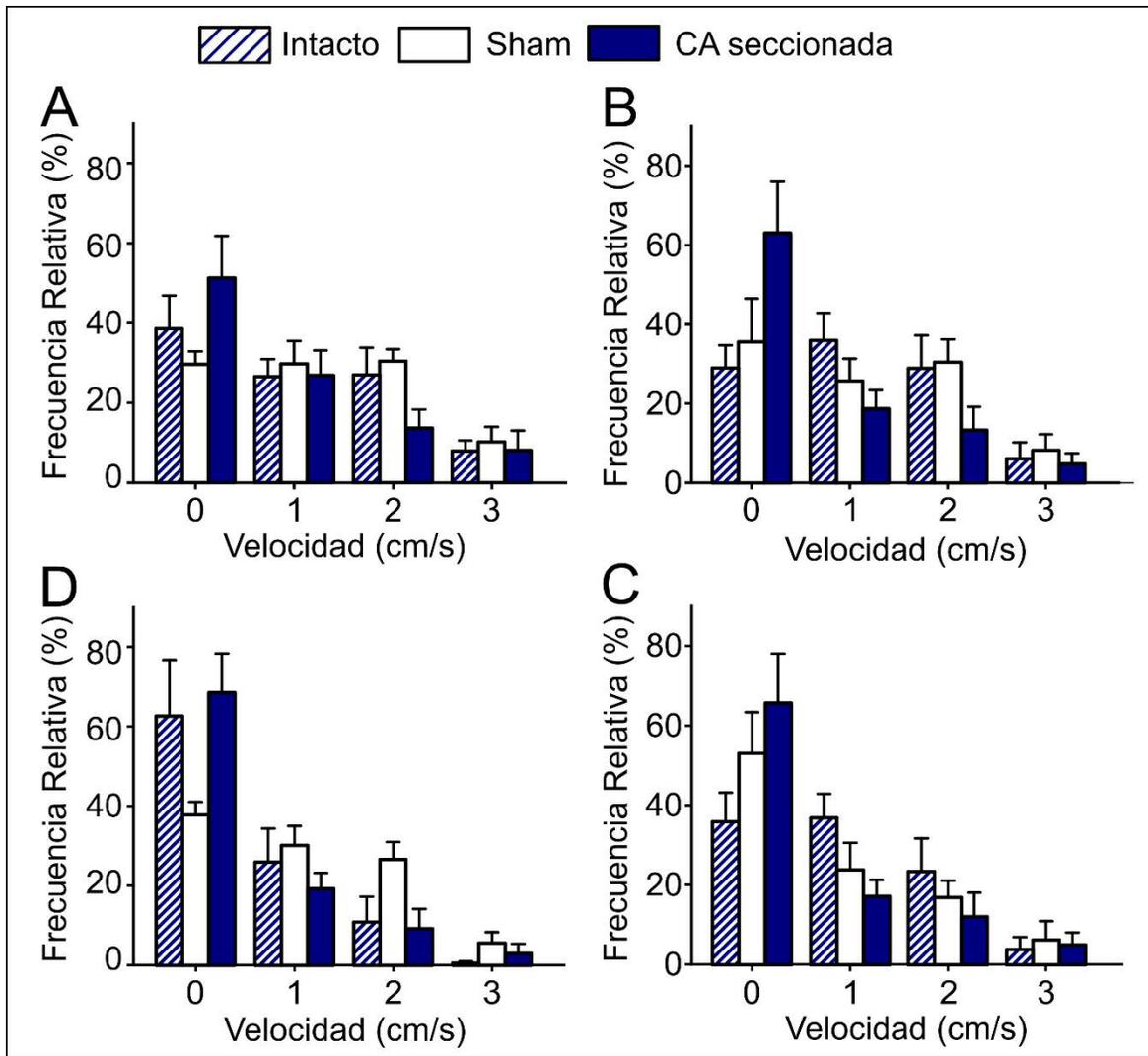


Figura 5. Efecto de la sección completa del tracto conectivo del cangrejo en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz azul durante una hora. En la ordenada se muestra la frecuencia relativa medida en porcentaje (%), en la abscisa, la velocidad (cm/s). La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba de ANOVA de una vía para datos paramétricos, o Kruskal Wallis para datos no paramétricos. A) Velocidad medida a los 5 minutos. B) Velocidad medida a los 25 minutos. C) Velocidad medida a los 45 minutos. D) Velocidad medida a los 65 minutos.

### 4.3 Efecto de la luz azul en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección de la cadena abdominal del lado izquierdo

Para este grupo se utilizó una población de 4 cangrejos; en esta prueba se observó un incremento paulatino en el desplazamiento total recorrido a lo largo del tiempo a comparación de los grupos intacto y con falsa lesión, es decir, la respuesta motora de estos en el primer ensayo (5 min) fue menor, teniendo una actividad locomotora baja al principio, con un desplazamiento recorrido de 201 ( $\pm 38$ ) cm, con una velocidad promedio de 0.567 ( $\pm 0.065$ ) cm/s. Los datos de la respuesta locomotora fueron aumentando con relación al número de pruebas (véase Figura 6). También se observó que el desplazamiento de los cangrejos de este grupo no es inmediato, sino que les toma más tiempo comenzar a caminar dentro de la caja, es decir, su periodo de latencia es mayor en comparación con los grupos de cangrejos intactos.

Tabla 9. Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con sección del tracto conectivo izquierdo estimulado con luz monocromática azul.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{X}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-MR de una vía	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Seccionado izquierdo	5	207 (38)	4	0.972	0.864	74.052	0.003	5 vs. 25	3.786	0.011
	25	257 (32)						5 vs. 45	7.123	7.250E-5
	45	302 (29)						5 vs. 65	7.791	3.166E-5
	65	311 (31)								

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Dunnett Test.

Se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para determinar si los datos cumplen con la normalidad, los datos obtenidos fueron de 0.972,  $p > 0.05$  lo cual confirmó que estos son normales. Enseguida, el resultado de la prueba de ANOVA dio como resultado que el grupo es estadísticamente diferente en función del tiempo al tener como resultado un valor de  $p < 0.05$ . Posteriormente se aplicó la prueba de Dunnett para hacer la comparación entre los datos de 5 minutos contra los datos del resto del tiempo, arrojando que existe diferencia estadísticamente significativa entre la prueba inicial comparada con el resto de los tiempos, donde 5 vs. 25 minutos tiene un valor de  $|t|=3.786$ ,  $p < 0.05$ ,  $|t|=7.123$ ,  $p < 0.001$  para 5 vs. 45 minutos y  $|t|=7.791$ ,  $p < 0.001$  para 5 vs. 65 minutos.

Tabla 10. Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con sección de la cadena abdominal del lado izquierdo vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática azul.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{X}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor- $p$	ANOVA- de una vía	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Intacto	5	351 (41)	4	0.977	0.882	5.408	0.026	I5 vs. FL5	0.775	0.456
Falsa Lesión (sham)		397 (45)	5	0.982	0.946			I5 vs. SI5	-2.308	0.044
Seccionado Izquierdo		207 (38)	4	0.961	0.784			FL5 vs. SI5	-3.208	0.009
Intacto	25	312 (49)	4	0.872	0.308	0.641	0.547	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		311 (34)	5	0.851	0.198			-	-	-
Seccionado Izquierdo		257 (32)	4	0.886	0.365			-	-	-
Intacto	45	233 (49)	4	0.826	0.159	0.713	0.513	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		255 (39)	5	0.978	0.922			-	-	-
Seccionado Izquierdo		302 (29)	4	0.947	0.700			-	-	-
Intacto	65	162 (58)	4	0.895	0.405	3.859	0.057	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		259 (19)	5	0.933	0.620			-	-	-
Seccionado Izquierdo		311 (31)	4	0.961	0.785			-	-	-

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Fisher Test.

Cuando se hizo la comparación en triadas de los datos de desplazamiento del grupo con sección de la cadena abdominal izquierda vs. el grupo de animales intacto y de falsa lesión, la prueba de Shapiro-Wilk determinó que los datos presentaron normalidad ( $p > 0.05$ ); más adelante, la comparación en triadas en cada tiempo, mostró que únicamente la comparación entre grupos a los 5 minutos de desplazamiento presentó diferencia significativa, con un valor de 5.408,  $p < 0.05$ , para el resto de los tiempos no hubo diferencias estadísticamente significativas.

Posteriormente, se hizo la comparación los 3 grupos de cangrejos en pares a los 5 minutos, dado que fue el único tiempo estadísticamente diferente, dicha prueba mostró que el grupo con sección en la cadena abdominal izquierda es significativamente diferente tanto del grupo intacto ( $|t| = -2.308$ ,  $p < 0.05$ ) como del grupo con falsa lesión ( $|t| = 3.208$ ,  $p < 0.01$ ) (véase Figura 6).

(anexar vínculo para video)

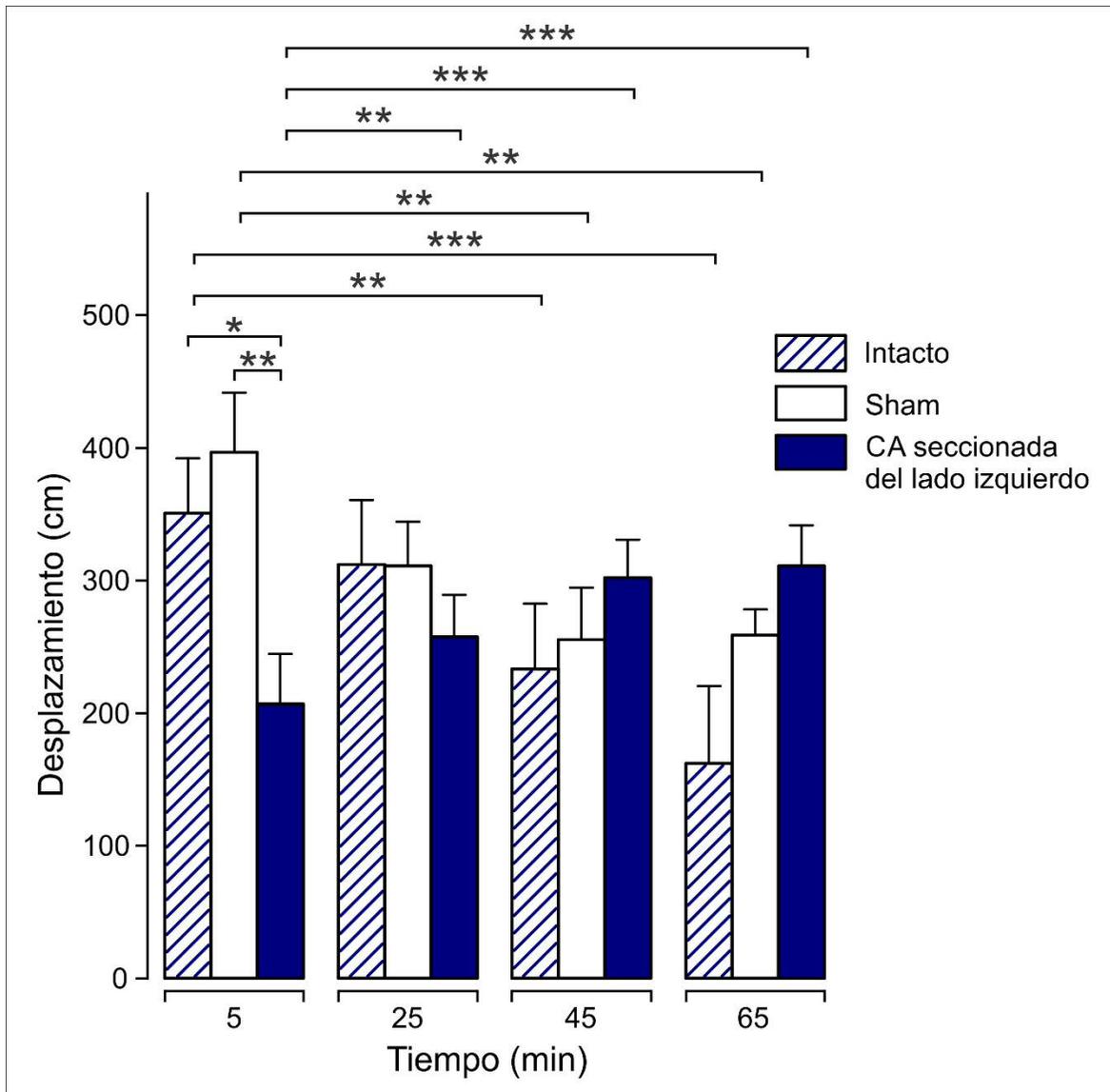


Figura 6. Efecto de la sección del tracto conectivo del lado izquierdo en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática azul durante una hora. En la ordenada, se muestra el desplazamiento (cm) del cangrejo en el lapso de 5 minutos posteriores la fotoestimulación. En la abscisa, el curso temporal (min) de la respuesta del cangrejo observada con cada estímulo luminoso. La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba estadística de ANOVA de una sola vía, seguida por la prueba post-hoc de Fisher.

\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$

Tabla 11. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 5 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Intacto	0	39 (8)	5	0.998	0.998	4.17533	0.04204	I0 vs. FL0	-0.862	0.405
Falsa Lesión (sham)		30 (3)	6	0.840	0.131			I0 vs. SI0	1.976	0.072
Seccionado Izquierdo		61 (12)	4	0.974	0.869			FL0 vs. SI0	2.862	0.014
Intacto	1	26 (4)	5	0.854	0.209	0.073	0.930	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		30 (6)	6	0.864	0.203			-	-	-
Seccionado Izquierdo		30 (11)	4	0.860	0.262			-	-	-
Intacto	2	27 (7)	5	0.983	0.948	7.694	0.007	I2 vs. FL2	0.552	0.590
Falsa Lesión (sham)		30 (3)	6	0.832	0.112			I2 vs. SI2	-3.108	0.009
Seccionado Izquierdo		5 (2)	4	0.869	0.296			FL2 vs. SI2	-3.748	0.003
Intacto	3	8 (3)	5	0.915	0.497	1.570	0.456	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		10 (4)	6	0.893	0.334			-	-	-
Seccionado Izquierdo		3 (3)	4	0.647	0.002			-	-	-

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Fisher Test

Para el análisis de la velocidad a los 5 minutos, el bloque de velocidad de 3 cm/s fue el único de los 4 bloques que no tuvo normalidad de los datos, siendo el grupo de cangrejos con sección de la cadena ganglionar del lado izquierdo el que tuvo un valor de  $p < 0.05$ , el resto de los bloques tuvieron datos normales.

Respecto a la comparación de los grupos en triadas, se encontró diferencia significativa en el valor de la prueba de ANOVA a velocidades 0 y 2 cm/s ( $p < 0.05$ ) las velocidades de 1 y 3 cm/s no tuvieron datos con diferencia significativa ( $p > 0.05$ ).

En los grupos donde existió diferencia significativa, se aplicó la prueba de Fisher para hacer la comparación en pares y poder identificar si el grupo de animales seccionados de la cadena abdominal izquierda fue significativamente diferente de los grupos intacto y con falsa lesión, donde se encontró que a velocidad de 0 cm/s existe diferencia significativa entre el grupo que fue seccionado y el grupo de

animales con falsa lesión, teniendo como valor de  $|t|=2.862$ ,  $p < 0.05$ , mientras que en la velocidad de 2 cm/s los cangrejos seccionados fueron significativamente diferentes tanto de los animales intacto, como de los animales con falsa lesión, los valores de  $|t|$  fueron de  $-3.108$ ,  $p < 0.01$  y de  $-3.748$ ,  $p < 0.01$  respectivamente.

Aquí se entiende que los animales seccionados tienden a caminar menos, o detenerse con mayor frecuencia que los animales con la cadena abdominal intacta a los primeros 5 minutos de la medición de la respuesta locomotora (véase Figura 7).

Tabla 12. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 25 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	29 (6)	5	0.964	0.839	0	1
Falsa Lesión (sham)		36 (11)	6	0.789	0.046		
Seccionado Izquierdo		33 (10)	4	0.881	0.344		
Intacto	1	36 (7)	5	0.913	0.486	1.257	0.319
Falsa Lesión (sham)		26 (6)	6	0.957	0.801		
Seccionado Izquierdo		41 (10)	4	0.909	0.479		
Intacto	2	29 (8)	5	0.867	0.256	0.343	0.717
Falsa Lesión (sham)		30 (6)	6	0.967	0.874		
Seccionado Izquierdo		22 (7)	4	0.955	0.746		
Intacto	3	6 (4)	5	0.768	0.043	0.970	0.615
Falsa Lesión (sham)		8 (4)	6	0.788	0.046		
Seccionado Izquierdo		3 (2)	4	0.819	0.142		

(a) Shapiro-Wilk test.

Al llevar a cabo el análisis de los datos de la velocidad de los 25 minutos, los datos de los tratamientos fueron normales en los primeros 3 bloques de velocidad ( $p > 0.05$ ), sin embargo, al tener valores de  $p < 0.05$  en los grupos de cangrejos intacto y de falsa lesión, el bloque de velocidad 3 cm/s no tuvo datos normales.

Una vez identificada la normalidad de los datos, las pruebas de ANOVA correspondientes dieron a conocer que la comparación de los 3 grupos no fue estadísticamente diferente en ninguno de los 4 bloques de velocidad ( $p > 0.05$ ) (véase Figura 7).

Tabla 13. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 45 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	36 (7)	5	0.874	0.2824	1.628	0.237
Falsa Lesión (sham)		53 (10)	6	0.864	0.203		
Seccionado Izquierdo		34 (3)	4	0.771	0.059		
Intacto	1	37 (6)	5	0.930	0.596	1.532	0.256
Falsa Lesión (sham)		24 (7)	6	0.943	0.687		
Seccionado Izquierdo		40 (8)	4	0.809	0.120		
Intacto	2	23 (8)	5	0.886	0.337	0.312	0.738
Falsa Lesión (sham)		17 (4)	6	0.921	0.514		
Seccionado Izquierdo		21 (6)	4	0.964	0.802		
Intacto	3	4 (3)	5	0.654	0.003	0.428	0.807
Falsa Lesión (sham)		6 (5)	6	0.619	7.821E-4		
Seccionado Izquierdo		5 (5)	4	0.657	0.003		

(a) Shapiro-Wilk test.

Los resultados de la prueba de normalidad de los datos de velocidad aquí, mostraron que el bloque de velocidad 3 cm/s no tuvo normalidad en los datos, al tener los 3 tratamientos, valores de  $p < 0.05$ , mientras que en los 3 bloques de velocidad restantes (0, 1 y 2 cm/s) tuvieron datos normales ( $p > 0.05$ ); seguidamente, la prueba de ANOVA mostró que no existió diferencia estadísticamente significativa en la comparación entre los datos del grupo con sección de cadena abdominal izquierda, los grupos intacto, de falsa lesión para ningún bloque de velocidad ( $p > 0.05$ ).

Tabla 14. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 65 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	63 (14)	5	0.950	0.735	3.578	0.060
Falsa Lesión (sham)		38 (3)	6	0.953	0.766		
Seccionado Izquierdo		31 (2)	4	0.934	0.621		
Intacto	1	26 (8)	5	0.919	0.522	0.674	0.528
Falsa Lesión (sham)		30 (5)	6	0.857	0.178		
Seccionado Izquierdo		38 (8)	4	0.974	0.867		
Intacto	2	11 (6)	5	0.730	0.019	4.344	0.114
Falsa Lesión (sham)		27 (4)	6	0.950	0.740		
Seccionado Izquierdo		27 (4)	4	0.840	0.195		
Intacto	3	1 (0.4)	5	0.736	0.022	3.106	0.212
Falsa Lesión (sham)		6 (3)	6	0.814	0.078		
Seccionado Izquierdo		4 (3)	4	0.853	0.238		

(a) Shapiro-Wilk test.

El análisis de la velocidad en la medición de los 65 minutos arrojó los siguientes resultados: los bloques de velocidades 0 y 1 cm/s tuvieron datos normales ( $p > 0.05$ ) en los 3 grupos, en tanto que para las velocidades 2 y 3 cm/s, el grupo de cangrejos intactos tuvo valores de  $p < 0.05$  en ambos bloques de velocidad, por consecuencia ambas velocidades no presentaron normalidad de los datos.

En cuanto a la comparación de los grupos en triadas, ninguno de los bloques de velocidad tuvo diferencia estadísticamente significativa, aunque es importante mencionar que visualmente, el grupo de animales con falsa lesión tuvo un mayor porcentaje de paradas en este tiempo (0 cm/s), en relación con los 2 tratamientos restantes, sin embargo, la variabilidad de los datos en este tratamiento tuvo como resultado, que no existiera tal diferencia significativa en la comparación de triadas (véase Figura 7.)

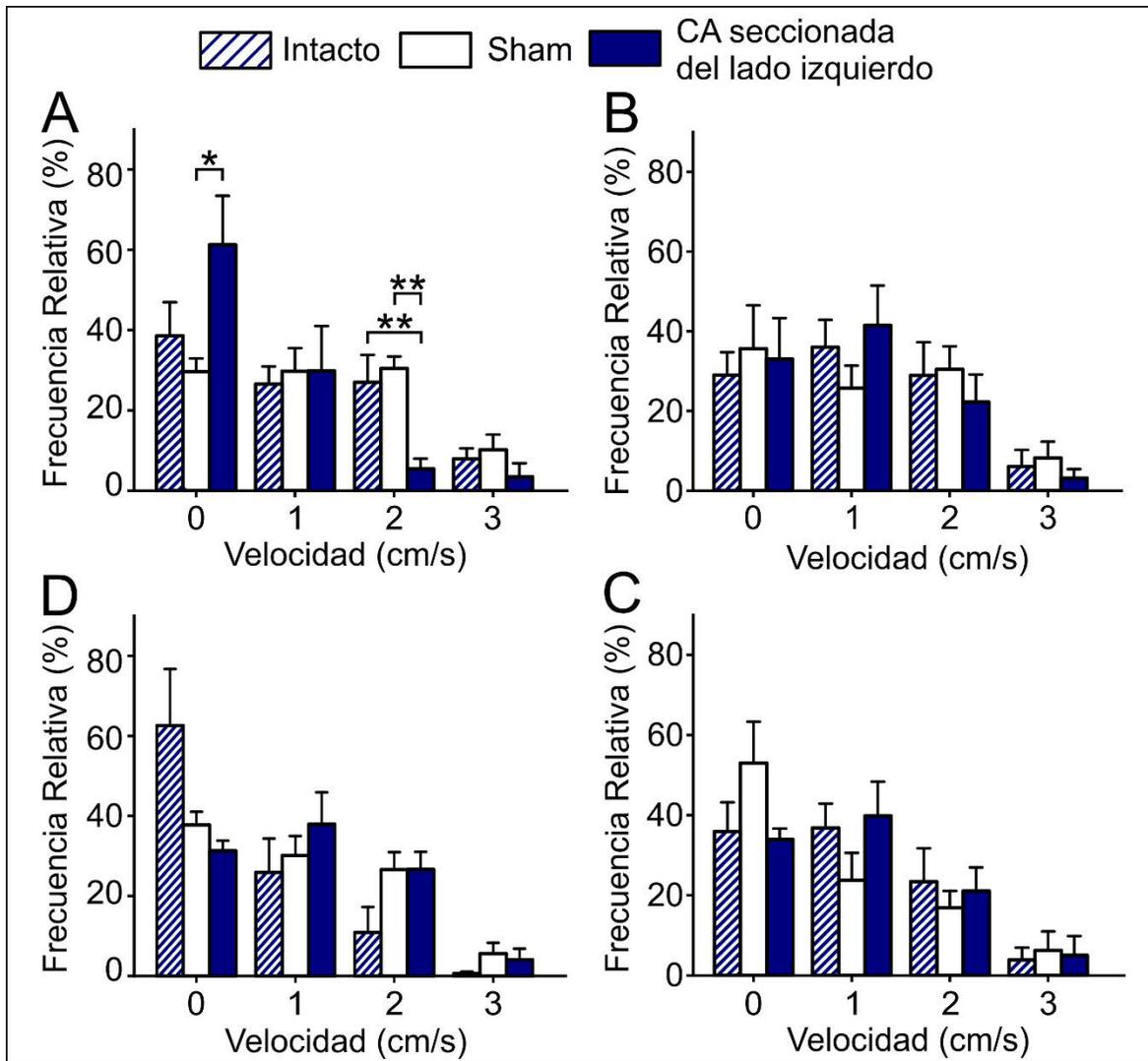


Figura 7. Efecto de la sección de la cadena ganglionar abdominal del cangrejo del lado izquierdo, en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz azul durante una hora. En la ordenada, la frecuencia relativa (%), en la abscisa, la velocidad (cm/s). La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba de ANOVA de una vía para datos paramétricos, o Kruskal Wallis para datos no paramétricos, seguido de una prueba post hoc de Fisher, para los datos paramétricos. A) Velocidad medida a los 5 minutos. B) Velocidad medida a los 25 minutos. C) Velocidad medida a los 45 minutos. D) Velocidad medida a los 65 minutos.

\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$

#### 4.4 Efecto de la luz azul en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección de la cadena abdominal del lado derecho

Este grupo fue conformado por 5 cangrejos, y lo que se observó aquí, fue que este tuvo una tendencia decreciente en el desplazamiento en relación con el tiempo, de manera similar a los grupos intacto, falsa lesión y con sección total de la cadena ganglionar abdominal. Sin embargo, y a diferencia de los grupos antes mencionados, este tuvo una respuesta locomotora ampliamente mayor, teniendo un desplazamiento inicial de 533 ( $\pm 88$ ) cm (véase Figura 8), y una velocidad promedio de 2.183 ( $\pm 0.115$ ) cm/s.

Tabla 15. Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con sección del tracto conectivo derecho estimulado con luz monocromática azul.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor- $p$	ANOVA-MR de una vía	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Seccionado Derecho	5	533 (88)	5	0.970	0.745	33.773	0.004	5 vs. 25	2.929	0.032
	25	454 (72)						5 vs. 45	5.587	2.492E-4
	45	382 (67)						5 vs. 65	6.341	6.261E-5
	65	362 (77)								

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Dunnett Test.

Determinamos que, al aplicar la prueba de Shapiro-Wilk, los datos del desplazamiento presentaron normalidad, obteniendo que el valor de la prueba fue de 0.970,  $p > 0.05$ . Después, se procedió a determinar si existió diferencia significativa de los datos en función del tiempo, por medio de la prueba de ANOVA-MR de una vía, y ésta mostró un valor de ANOVA de 33.773,  $p < 0.01$ , es decir, los datos fueron estadísticamente diferentes. Por último, se aplicó la prueba de Dunnett para hacer la comparación entre los datos de 5 minutos contra el resto del tiempo, y esto mostró que los datos son estadísticamente significativos el todo el curso temporal, donde 5 vs. 25 minutos tiene un valor de  $|t|=2.929$ ,  $p < 0.05$ ,  $|t|=5.587$ ,  $p < 0.001$  para 5 vs. 45 minutos y  $|t|=6.341$ ,  $p < 0.001$  para 5 vs. 65 minutos.

Tabla 16. Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con la sección de la cadena abdominal del lado derecho vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática azul.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía	Prob>F
Intacto	5	351 (41)	4	0.977	0.882	2.146	0.163
Falsa Lesión (sham)		397 (45)	5	0.982	0.946		
Seccionado Derecho		533 (88)	5	0.963	0.830		
Intacto	25	312 (49)	4	0.872	0.308	2.337	0.143
Falsa Lesión (sham)		311 (34)	5	0.851	0.198		
Seccionado Derecho		454 (72)	5	0.975	0.903		
Intacto	45	233 (49)	4	0.826	0.159	2.233	0.153
Falsa Lesión (sham)		255 (39)	5	0.978	0.922		
Seccionado Derecho		382 (67)	5	0.980	0.937		
Intacto	65	162 (58)	4	0.895	0.405	2.950	0.094
Falsa Lesión (sham)		259 (19)	5	0.933	0.620		
Seccionado Derecho		362 (77)	5	0.917	0.511		

(a) Shapiro-Wilk test.

Posterior a los resultados comparativos del curso temporal de la sección derecha, al hacer la comparación entre el grupo seccionado vs. los grupos de cangrejos intactos y con falsa lesión, la prueba de normalidad determinó que todos grupos tuvieron datos normales ( $p > 0.05$ ); a continuación, la prueba de ANOVA de una vía dio a conocer que los 3 tratamientos no fueron estadísticamente diferentes en el transcurso del tiempo, ya que esta tuvo un valor de 2.146,  $p > 0.05$  a los 5 minutos, 2.337,  $p > 0.05$  a los 25 minutos, 2.233,  $p > 0.05$  a los 45 minutos y 2.950,  $p > 0.05$  a los 65 minutos (véase Figura 8).

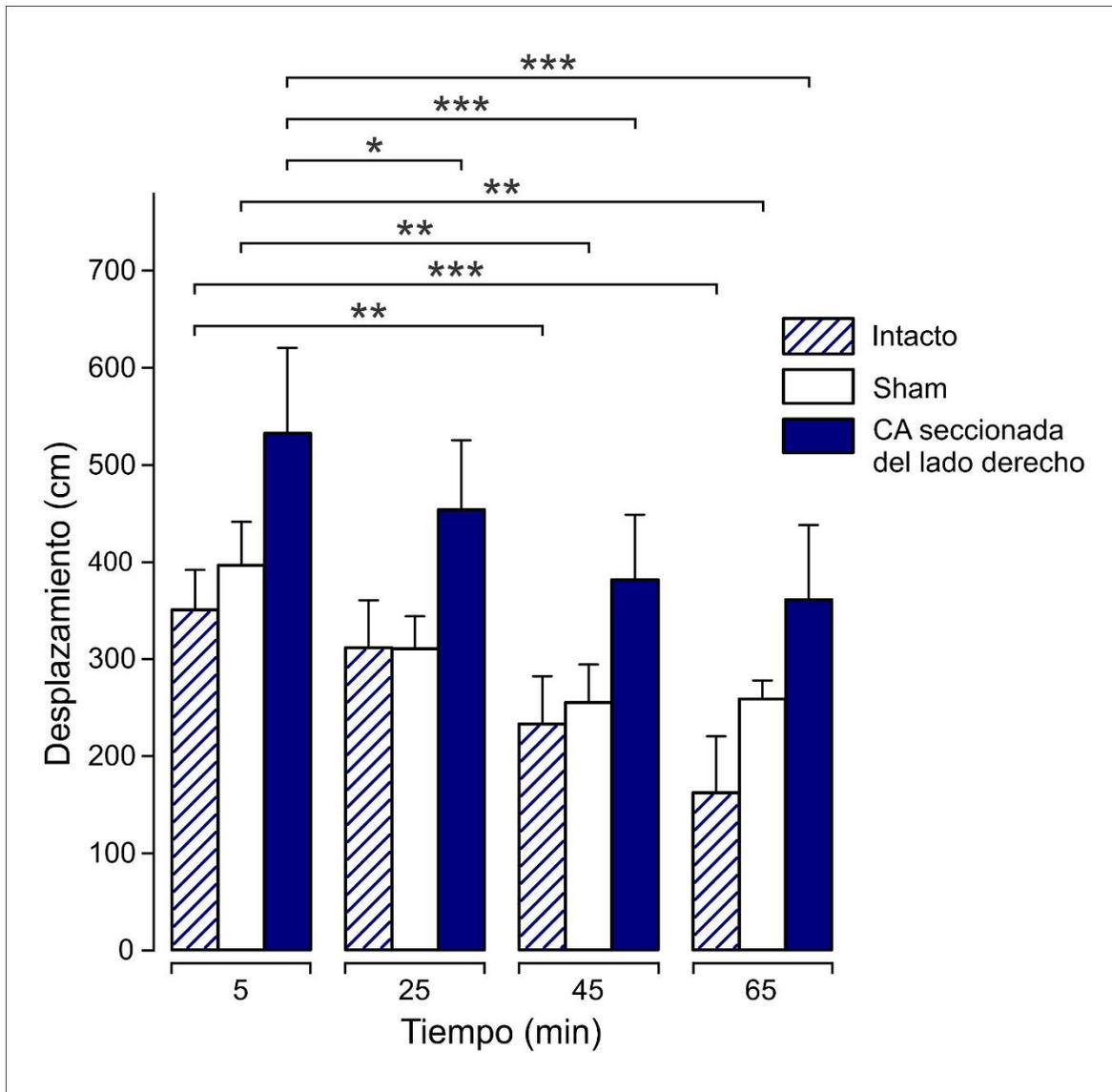


Figura 8. Efecto de la sección del tracto conectivo del lado derecho en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática azul durante una hora. En la ordenada, el desplazamiento (cm) del cangrejo en el lapso de 5 minutos a partir de la fotoestimulación. En la abscisa, el curso temporal (min) de la respuesta del cangrejo observada con cada estímulo luminoso. La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba estadística de ANOVA de una sola vía.

\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$

Tabla 17. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 5 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-de una vía	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Intacto	0	39 (8)	5	0.998	0.998	1.473	0.265	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		30 (3)	6	0.840	0.131			-	-	-
Seccionado Derecho		24 (6)	5	0.943	0.690			-	-	-
Intacto	1	26 (4)	5	0.854	0.209	1.476	0.264	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		30 (6)	6	0.864	0.203			-	-	-
Seccionado Derecho		19 (6)	5	0.912	0.482			-	-	-
Intacto	2	27 (7)	5	0.983	0.948	0.147	0.865	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		30 (3)	6	0.832	0.112			-	-	-
Seccionado Derecho		28 (3)	5	0.924	0.555			-	-	-
Intacto	3	8 (3)	5	0.915	0.497	4.618	0.030	I3 vs. FL3	0.312	0.760
Falsa Lesión (sham)		10 (4)	6	0.893	0.334			I3 vs. SD3	2.741	0.017
Seccionado Derecho		29 (8)	5	0.914	0.490			FL3 vs. SD3	2.550	0.024

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Fisher Test

Para los 5 minutos iniciales, la prueba de normalidad reveló que los 4 bloques de velocidad tuvieron datos normales en los 3 grupos de cangrejos ( $p > 0.05$ ), mientras que los resultados de la prueba de ANOVA mostraron que el bloque de 3 cm/s fue el único con resultados estadísticamente diferentes al comparar en triadas.

Posteriormente, se hizo la comparación en pares en el bloque de velocidad estadísticamente diferente (3 cm/s) para conocer si el grupo de cangrejos con sección en la cadena abdominal derecha fue estadísticamente diferente de los grupos de animales intactos; la prueba de Fisher arrojó finalmente que el grupo de cangrejos con sección fue estadísticamente diferente de los cangrejos intactos, obteniendo como resultados valores de  $|t|=2.741$ ,  $p < 0.05$  comparando el grupo seccionado derecho vs. el grupo intacto, y  $|t|=2.550$ ,  $p < 0.05$  al comparar vs. el grupo de falsa lesión. (véase Figura 9).

Tabla 18. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 25 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	29 (6)	5	0.964	0.839	0.087	0.957
Falsa Lesión (sham)		36 (11)	6	0.789	0.046		
Seccionado Derecho		29 (7)	5	0.892	0.369		
Intacto	1	36 (7)	5	0.913	0.486	1.212	0.329
Falsa Lesión (sham)		26 (6)	6	0.957	0.801		
Seccionado Derecho		25 (7)	5	0.914	0.492		
Intacto	2	29 (8)	5	0.867	0.256	0.015	0.985
Falsa Lesión (sham)		30 (6)	6	0.967	0.874		
Seccionado Derecho		29 (3)	5	0.956	0.784		
Intacto	3	6 (4)	5	0.768	0.043	2.663	0.264
Falsa Lesión (sham)		8 (4)	6	0.788	0.046		
Seccionado Derecho		16 (5)	5	0.958	0.793		

(a) Shapiro-Wilk test.

En los experimentos analizados a los 25 minutos, los datos de la velocidad en los bloques de 1 y 2 cm/s presentaron datos normales para los 3 tratamientos ( $p > 0.05$ ), sin embargo, el grupo de cangrejos intacto en el bloque de velocidad 0 cm/s, y los grupos intacto y de falsa lesión a velocidad 3 cm/s, tuvieron valores de  $p < 0.05$ , teniendo como consecuencia que ambas velocidades no tuvieran normalidad de datos.

Al comparar los grupos de cangrejos en triadas con las pruebas de ANOVA correspondientes, encontramos que no hubo diferencia estadísticamente significativa en ningún bloque de velocidades en los experimentos hechos a este tiempo ( $p > 0.05$ ) (véase Figura 9).

Tabla 19. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección en el tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 45 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	36 (7)	5	0.874	0.2824	0.983	0.400
Falsa Lesión (sham)		53 (10)	6	0.864	0.203		
Seccionado Derecho		39 (10)	5	0.967	0.854		
Intacto	1	37 (6)	5	0.930	0.596	1.314	0.302
Falsa Lesión (sham)		24 (7)	6	0.943	0.687		
Seccionado Derecho		24 (6)	5	0.811	0.100		
Intacto	2	23 (8)	5	0.886	0.337	0.385	0.688
Falsa Lesión (sham)		17 (4)	6	0.921	0.514		
Seccionado Derecho		22 (4)	5	0.994	0.992		
Intacto	3	4 (3)	5	0.654	0.003	2.144	0.342
Falsa Lesión (sham)		6 (5)	6	0.619	7.821E-4		
Seccionado Derecho		14 (7)	5	0.784	0.060		

(a) Shapiro-Wilk test.

En los datos de velocidad a los 45 minutos, se encontró que todos los grupos de animales en los bloques 0, 1 y 2 cm/s, presentaron datos normales ( $p > 0.05$ ), entretanto, la prueba de normalidad en el bloque de 3 cm/s arrojó que los grupos de cangrejos intactos y con falsa lesión no cumplieron con los supuestos de normalidad ( $p < 0.05$ ).

Para la comparación en triadas, los valores de las pruebas de ANOVA revelaron que no existió diferencia estadísticamente significativa en ningún bloque de velocidad al hacer la comparación en este tiempo (véase Figura 9).

Tabla 20. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática azul medida a los 65 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F	Comparación de pares (c)	Valor  t	Prob> t
Intacto	0	63 (14)	5	0.950	0.735	2.015	0.173	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		38 (3)	6	0.953	0.766			-	-	-
Seccionado Derecho		39 (10)	5	0.855	0.211			-	-	-
Intacto	1	26 (8)	5	0.919	0.522	0.709	0.510	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		30 (5)	6	0.857	0.178			-	-	-
Seccionado Derecho		21 (2)	5	0.887	0.343			-	-	-
Intacto	2	11 (6)	5	0.730	0.019	3.515	0.172	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		27 (4)	6	0.950	0.740			-	-	-
Seccionado Derecho		26 (6)	5	0.976	0.911			-	-	-
Intacto	3	1 (0.4)	5	0.736	0.022	6.420	0.040	I3 vs. FL3	-1.415	0.471
Falsa Lesión (sham)		6 (3)	6	0.814	0.078			I3 vs. SD3	-2.531	0.034
Seccionado Derecho		14 (5)	5	0.97	0.895			FL3 vs. SD3	-1.229	0.657

(a) Shapiro-Wilk test. (c) Mean Rank Diff test

Por último, en la distribución de la frecuencia de velocidad a los 65 minutos de los experimentos, la prueba de Shapiro-Wilk dio a conocer que sólo en los bloques de velocidad 0 y 1 cm/s los datos cumplieron con normalidad ( $p > 0.05$ ); para las velocidades 2 y 3 cm/s, los grupos de animales intactos y con falsa lesión tuvieron valores de  $p < 0.05$ , por lo tanto, no cumplieron con los supuestos de normalidad.

Seguidamente, los resultados de las pruebas de ANOVA respectivas mostraron que la comparación en triadas en velocidad de 3 cm/s fue estadísticamente diferente, mientras que en los bloques de velocidad restantes no hubo diferencia estadísticamente significativa en la comparación de los tratamientos.

Finalmente, se utilizó la prueba de Mean Rank Diff para datos no paramétricos para hacer la comparación en pares, donde encontramos que, al comparar el grupo de

cangrejos con sección de la cadena abdominal derecha contra los cangrejos intactos, hubo diferencia estadísticamente significativa ( $|t|=-2.531$ ,  $p < 0.05$ ).

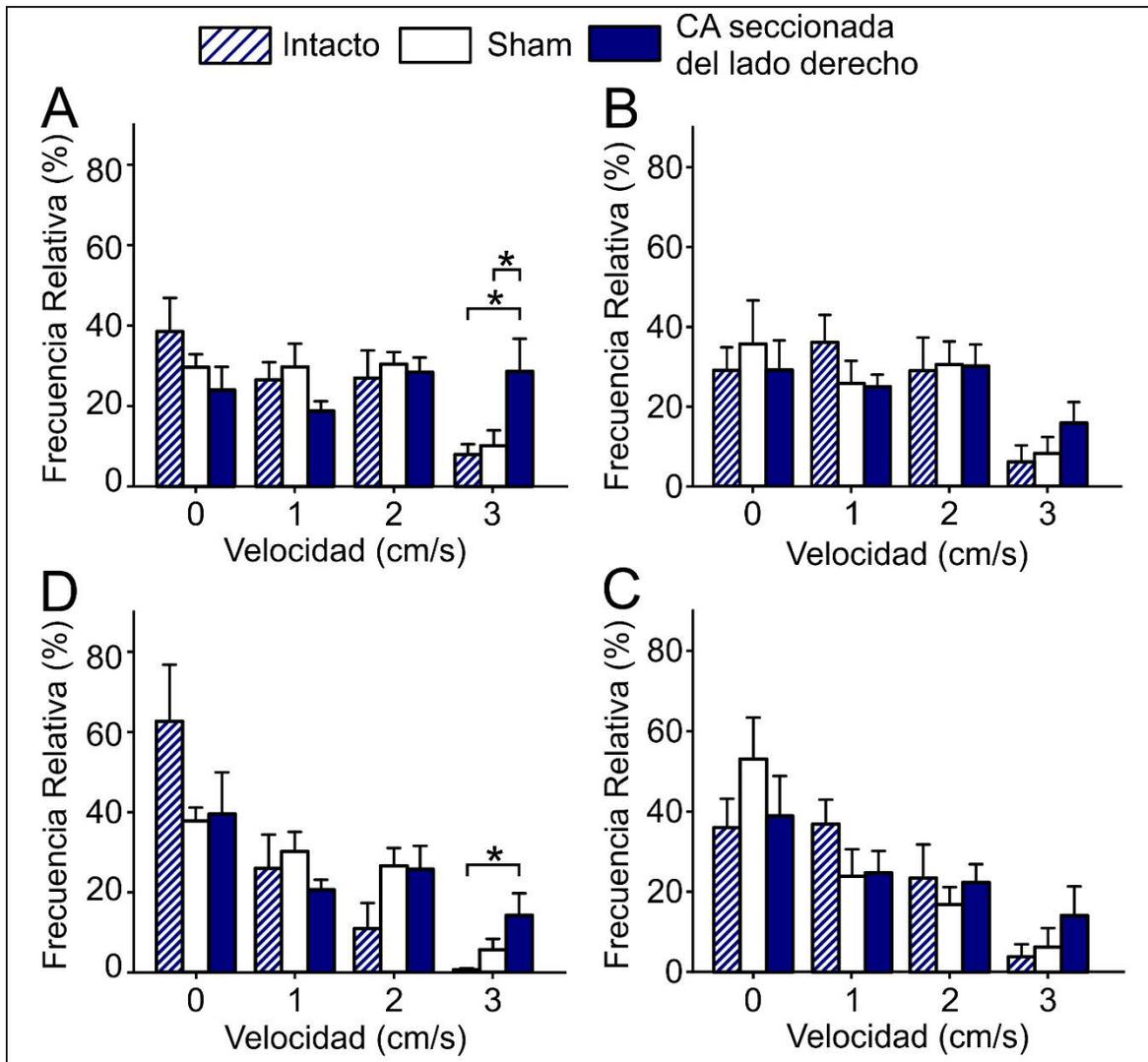


Figura 9. Efecto de la sección de la cadena ganglionar abdominal del cangrejo del lado derecho, en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz azul durante una hora. En la ordenada, la frecuencia relativa (%), en la abscisa, la velocidad (cm/s). La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba de ANOVA de una vía para datos paramétricos, o Kruskal Wallis para datos no paramétricos, seguido de una prueba post hoc de Fisher, para los datos paramétricos, o Mean Rank Diff para datos no paramétricos. \* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$

#### 4.5 Efecto de la luz verde en la actividad locomotora del grupo de cangrejos control: intactos y con falsa lesión

*Animales intactos.* Este grupo fue conformado por un total de 5 cangrejos, los cuales fueron adaptados a 1 hora de oscuridad sin haber sido previamente sometidos a cirugía experimental. Dicho grupo tuvo una respuesta locomotora similar a lo visto bajo exposición a luz azul, con su desplazamiento inicial máximo en el primer ensayo, el cual fue de 375 ( $\pm 37$ ) cm, con una velocidad promedio de 1.336 ( $\pm 0.088$ ) cm/s (véase Tabla 21).

*Animales con falsa lesión (sham).* Para este grupo se tomó una población de 6 cangrejos, a los cuales únicamente se les aplicó anestesia y se les hizo un corte en la quitina abdominal sin hacer ningún tipo de sección a la cadena ganglionar abdominal. De igual forma, la respuesta locomotora de este grupo fue decreciente en relación con el número de ensayos, donde su desplazamiento inicial fue de 385 ( $\pm 84$ ) cm, con una velocidad promedio de 1.285 ( $\pm 0.094$ ) cm/s (véase Tabla 22).

Tabla 21. Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo intacto estimulado con luz monocromática verde.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-MR de una vía	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Intacto	5	375 (37)	5	0.956	0.466	252.850	9.142E-5	5 vs. 25	0.7053	0.82273
	25	345 (38)						5 vs. 45	1.87911	0.19571
	45	295 (19)						5 vs. 65	2.74821	0.04446
	65	258 (33)								

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Dunnett Test.

Tabla 22. Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con falsa lesión estimulado con luz monocromática verde.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-MR de una vía	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Falsa Lesión (sham)	5	385 (84)	6	0.937	0.143	21.223	0.005	5 vs. 25	1.055	0.599
	25	333 (60)						5 vs. 45	2.369	0.079
	45	269 (60)						5 vs. 65	3.212	0.015
	65	228 (82)								

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Dunnett Test.

Tanto los datos de desplazamiento del grupo intacto, como el grupo con falsa lesión, cumplieron los supuestos de normalidad; la prueba de Shapiro-Wilk para ambos grupos tuvo valores de  $p > 0.05$ ; después, los resultados de la prueba de ANOVA determinaron que los datos fueron estadísticamente diferentes en función del tiempo, teniendo valores de 252.850,  $p < 0.05$  para los cangrejos intactos y de 21.223,  $p < 0.01$  para el grupo con falsa lesión.

Posteriormente se procedió a hacer la comparación de los datos de 5 minutos contra los datos del resto de las pruebas realizadas, donde hubo diferencia significativa entre la medición a los 5 minutos y la medición hecha a los 65 minutos, con valores de  $|t|=2.74821$ ,  $p < 0.05$  para el grupo intacto, y  $|t|=3.212$ ,  $p < 0.05$  para falsa lesión.

#### 4.6 Efecto de la luz verde en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección completa de la cadena abdominal

El grupo fue conformado por 4 cangrejos, y a diferencia de cualquier otro grupo previamente medido, el grupo con la cadena abdominal totalmente seccionada presentó una respuesta locomotora muy baja en cada medición realizada, alcanzando su desplazamiento máximo a los 5 minutos, el cual fue de 142 ( $\pm 68$ ) cm, y una velocidad promedio de 0.351 ( $\pm 0.065$ ) cm/s y posterior a esto, la respuesta locomotora continuó disminuyendo durante el transcurso de la hora restante de medición (véase Fig. 10).

Visualmente, en este grupo en particular se caracterizó que existieron individuos que no llegaron a reaccionar a los pulsos de luz, teniendo periodos de latencia muy altos, nulo movimiento, o inclusive, girando sobre su propio eje sin presentar desplazamiento hacia ninguno de los lados dentro de la caja de observación.

Tabla 23. Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con la sección completa de la cadena abdominal estimulado con luz monocromática verde.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA Friedman	Prob>Chi-Cuadrada
Cadena abdominal seccionada	5	142 (68)	4	0.84537	0.01165	1.5	0.68227
	25	91 (38)					
	45	73 (39)					
	65	104 (59)					

(a) Shapiro-Wilk test.

Los datos del desplazamiento total no presentaron normalidad, pues la prueba de Shapiro-Wilk tuvo un valor es de 0.84537,  $p < 0.05$ ; así como tampoco existió diferencia estadísticamente significativa en función del tiempo, ya que el resultado de la prueba de ANOVA Friedman fue de 1.5,  $p > 0.05$ .

Tabla 24. Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con la sección total de la cadena abdominal vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática verde.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Intacto	5	375 (37)	5	0.949	0.727	3.413	0.067	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		385 (84)	6	0.956	0.792			-	-	-
CA seccionada		142 (68)	4	0.923	0.556			-	-	-
Intacto	25	345 (38)	5	0.962	0.820	6.944	0.010	I25 vs. FL25	-0.166	0.871
Falsa Lesión (sham)		333 (60)	6	0.917	0.487			I25 vs. CS25	-3.322	0.006
CA seccionada		91 (38)	4	0.858	0.253			FL25 vs. CS25	-3.297	0.006
Intacto	45	295 (19)	5	0.827	0.131	5.656	0.019	I45 vs. FL45	-0.393	0.701
Falsa Lesión (sham)		269 (60)	6	0.945	0.703			I45 vs. CS45	-3.101	0.009
CA seccionada		73 (39)	4	0.795	0.094			FL45 vs. CS45	-2.854	0.014
Intacto	65	258 (33)	5	0.689	0.007	4.327	0.115	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		228 (82)	6	0.853	0.166			-	-	-
CA seccionada		104 (59)	4	0.839	0.193			-	-	-

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Fisher Test.

En el análisis de los datos del desplazamiento de los cangrejos con la sección total de la cadena abdominal vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión, se destacó lo siguiente: la prueba de normalidad de los datos del desplazamiento presentó normalidad para los datos de 5, 25 y 45 minutos, estos tuvieron valores de  $p > 0.05$ . El resultado de la prueba de normalidad en el grupo intacto a los 65 minutos tuvo un valor de  $p < 0.05$ , es decir, el grupo no presentó normalidad, lo cual automáticamente hizo que, aunque los resultados de los grupos sham y de la cadena seccionada si fueran datos normales, todo el bloque medido a los 65 minutos fuera considerado de datos no normales.

Seguidamente, la comparación en triadas de los grupos encontró que estas presentaron diferencias estadísticamente significativas a los 25 y 45 minutos, dando como valores 6.944  $p < 0.01$  a los 25 minutos y 5.656  $p < 0.05$  para 45 minutos.

Por último, se hizo la comparación en pares a los 25 y 45 minutos; la prueba de Fisher mostró que el grupo de los cangrejos con la sección completa de la cadena abdominal fue significativamente diferente de los grupos intactos ( $|t| = -3.322$ ,  $p < 0.01$  a los 25 minutos y  $|t| = -3.101$ ,  $p < 0.01$  a los 45 minutos) y de falsa lesión ( $|t| = -3.297$ ,  $p < 0.01$  a los 25 minutos y  $|t| = -2.854$ ,  $p < 0.05$  a los 45 minutos).

(anexar vínculo para video)

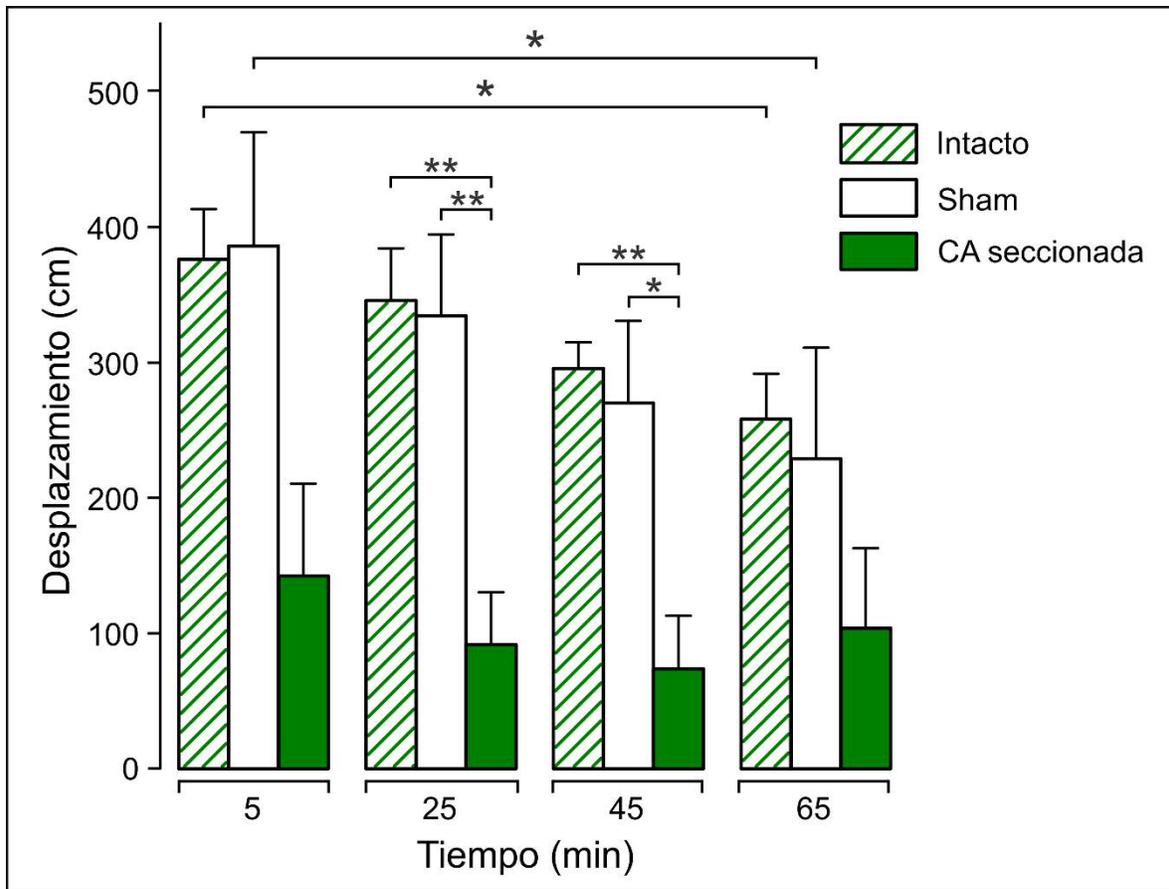


Figura 10. Efecto de la sección completa del tracto conectivo en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática verde durante una hora. En la ordenada, el desplazamiento (cm) del cangrejo durante los 5 minutos a partir de la fotoestimulación. En la abscisa, el curso temporal (min) de la respuesta del cangrejo observada con cada estímulo luminoso. La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba estadística de ANOVA de una sola vía para datos paramétricos, y Kruskal Wallis ANOVA para datos no paramétricos, seguida por la prueba post-hoc de Fisher.

\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$

Tabla 25. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 5 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F	Comparación de pares (c)	Valor  t	Prob> t
Intacto	0	32 (5)	5	0.843	0.173	3.836	0.147	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		38 (11)	6	0.695	0.005			-	-	-
CA seccionada		77 (14)	4	0.836	0.183			-	-	-
Intacto	1	23 (1)	5	0.918	0.516	1.183	0.340	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		25 (5)	6	0.952	0.757			-	-	-
CA seccionada		15 (7)	4	0.951	0.725			-	-	-
Intacto	2	35 (5)	5	0.951	0.746	5.992	0.05	I2 vs. FL2	1.545	0.367
Falsa Lesión (sham)		21 (6)	6	0.964	0.851			I2 vs. CS2	2.408	0.048
CA seccionada		7 (6)	4	0.664	0.004			FL2 vs. CS2	1.054	0.876
Intacto	3	10 (3)	5	0.934	0.626	5.563	0.062	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		16 (7)	6	0.804	0.063			-	-	-
CA seccionada		1 (1)	4	0.630	0.001			-	-	-

(a) Shapiro-Wilk test. (c) Mean Rank Diff test

El análisis de los datos de velocidad en los primeros 5 minutos, reveló que únicamente el bloque de velocidad 1 cm/s presentó datos normales ( $p > 0.05$ ). El grupo de cangrejos con falsa lesión a velocidad 0 cm/s, y el grupo de cangrejos con sección total de la cadena abdominal a velocidades 2 y 3 cm/s no presentaron normalidad, al dar la prueba de Shapiro-Wilk valores de  $p < 0.05$  en estos grupos.

Ulteriormente, las pruebas de ANOVA correspondientes mostraron que el bloque de velocidad 2 cm/s presentó diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) al hacer la comparación entre los 3 tratamientos experimentales, en tanto que en el resto de los bloques no presentaron diferencia en la comparación en triadas.

Posteriormente, la comparación en pares reveló que, existió diferencia significativa cuando comparamos el grupo de cangrejos con sección completa de la cadena

abdominal vs. el grupo de cangrejos intactos, dando como resultado  $|t|=-2.408$ ,  $p < 0.05$  (véase Figura 11).

Tabla 26. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 25 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F	Comparación de pares (b) (c)	Valor  t	Prob> t
Intacto	0	42 (13)	5	0.623	0.045	8.25	0.016	I0 vs. FL0	0	1
Falsa Lesión (sham)		31 (6)	6	0.210	0.747			I0 vs. CS0	-2.5	0.037
CA seccionada		93 (3)	4	0.179	0.785			FL0 vs. CS0	-2.598	0.028
Intacto	1	23 (5)	5	0.281	0.477	6.556	0.012	I1 vs. FL1	1.208	0.251
Falsa Lesión (sham)		30 (5)	6	0.187	0.831			I1 vs. CS1	-2.377	0.035
CA seccionada		6 (3)	4	0.179	0.785			FL1 vs. CS1	-3.603	0.004
Intacto	2	29 (7)	5	0.466	0.134	8.4	0.015	I2 vs. FL2	0	1
Falsa Lesión (sham)		30 (7)	6	0.183	0.842			I2 vs. CS2	2.5	0.037
CA seccionada		0 (0)	4	1.545	3.219E-5			FL2 vs. CS2	2.598	0.028
Intacto	3	6 (4)	5	0.403	0.208	7.14	0.028	I3 vs. FL3	0.258	1
Falsa Lesión (sham)		9 (4)	6	0.461	0.159			I3 vs. CS3	2.4	0.049
CA seccionada		0 (0)	4	1.545	3.219E-5			FL3 vs. CS3	2.252	0.073

(a) Anderson-Darling test. (b) Fisher test (c) Mean Rank Diff test

Para el análisis de la velocidad de los experimentos a los 25 minutos, aplicamos por única ocasión la prueba de Anderson-Darling para definir si existió normalidad de los datos, esto debido a que la prueba de Shapiro-Wilk, para este tiempo específico, no pudo determinar si los grupos presentaban normalidad, por lo tanto, se recurrió a esta prueba como alternativa para analizar los datos.

Aquí obtuvimos al igual que a los 5 minutos, que sólo el bloque de velocidad 1 cm/s presentó datos normales ( $p > 0.05$ ), mientras que el grupo de cangrejos intactos a velocidad 0 cm/s, y el grupo de cangrejos con sección total de la cadena abdominal a velocidades 2 y 3 cm/s no presentaron normalidad, arrojando la prueba de normalidad valores de  $p < 0.05$ .

Luego de esto, se compararon los grupos de cangrejos en triadas con las pruebas de ANOVA respectivas para cada bloque, y estas dieron a conocer que la comparación en triadas de los datos en los 4 bloques de velocidad, fueron estadísticamente diferentes ( $p < 0.05$ ).

Finalmente, la comparación en pares arrojó que el grupo de animales con sección completa de la cadena abdominal fue estadísticamente diferente cuando se comparó contra los grupos intacto y con falsa lesión, en los 4 bloques de velocidad, lo cual se debió a que, en este tiempo, los animales seccionados tuvieron el mayor porcentaje de velocidad 0 cm/s, es decir, estos tuvieron movimiento muy limitado dentro de la caja de observación (véase Figura 11).

Tabla 27. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 45 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	KW-ANOVA	Prob>Chi-Square	Comparación de pares (b)	z	Prob> t
Intacto	0	36 (8)	5	0.783	0.059	6.873	0.032	I0 vs. FL0	-1.391	0.493
Falsa Lesión (sham)		55 (9)	6	0.904	0.397			I0 vs. CS0	-2.617	0.027
CA Seccionada		85 (13)	4	0.677	0.006			FL0 vs. CS0	-1.414	0.472
Intacto	1	35 (5)	5	0.939	0.659	6.910	0.032	I1 vs. FL1	1.589	0.336
Falsa Lesión (sham)		21 (3)	6	0.951	0.750			I1 vs. CS1	2.602	0.028
CA Seccionada		8 (7)	4	0.721	0.020			FL1 vs. CS1	1.213	0.675
Intacto	2	26 (4)	5	0.894	0.379	4.317	0.115	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		17 (5)	6	0.988	0.982			-	-	-
CA Seccionada		6 (6)	4	0.630	0.001			-	-	-
Intacto	3	4 (2)	5	0.802	0.084	3.01	0.222	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		7 (3)	6	0.855	0.173			-	-	-
CA Seccionada		1 (1)	4	0.630	0.001			-	-	-

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Mean Rank Diff test

La prueba de normalidad de los datos de velocidad en los experimentos realizados a los 45 minutos tuvo como resultado que los datos del grupo con sección completa de la cadena abdominal no fueron normales al tener estos, valores de  $p < 0.05$  en las 4 velocidades, de esta forma se procedió a comparar los datos de los tratamientos en triadas con Kruskal Wallis ANOVA, prueba que mostró diferencia estadísticamente significativa en los bloques de velocidad 0 y 1 cm/s ( $p < 0.05$ ).

Ulteriormente, la comparación en pares con la prueba de Mean Rank Diff dio a conocer que, al comparar el grupo de cangrejos seccionados con el grupo intacto en ambos bloques de velocidad, este tiene diferencias estadísticamente significativas, teniendo como resultados valores de  $z = -2.617$ ,  $p < 0.05$  en velocidad 0 cm/s y  $z = 2.602$ ,  $p < 0.05$  para el bloque de velocidad 1 cm/s (véase Figura 11).

Tabla 28. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección total de la cadena abdominal vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 65 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor- $p$	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	49 (14)	5	0.878	0.302	1.454	0.272
Falsa Lesión (sham)		72 (9)	6	0.910	0.437		
Cadena abdominal seccionada		77 (14)	4	0.858	0.255		
Intacto	1	34 (11)	5	0.949	0.727	1.296	0.309
Falsa Lesión (sham)		19 (6)	6	0.929	0.576		
Cadena abdominal seccionada		16 (8)	4	0.963	0.798		
Intacto	2	15 (4)	5	0.795	0.074	1.559	0.459
Falsa Lesión (sham)		8 (4)	6	0.750	0.020		
Cadena abdominal seccionada		6 (6)	4	0.659	0.003		
Intacto	3	1 (1)	5	0.675	0.005	0.612	0.736
Falsa Lesión (sham)		1 (1)	6	0.645	0.002		
Cadena abdominal seccionada		0.4 (0.4)	4	0.630	0.001		

(a) Shapiro-Wilk test.

Los resultados de la prueba de normalidad a los 65 minutos arrojaron que los datos de la velocidad 0 y 1 cm/s eran normales ( $p > 0.05$ ), mientras que para los bloques de velocidad restantes (2 y 3 cm/s), no hubo normalidad en los datos de la velocidad ( $p < 0.05$ ).

Para la comparación en triadas de los datos, los valores de ANOVA tuvieron como resultado que no existió diferencia estadísticamente significativa, teniendo valores de  $p > 0.05$  en los 4 bloques de velocidad (ver Figura 11).

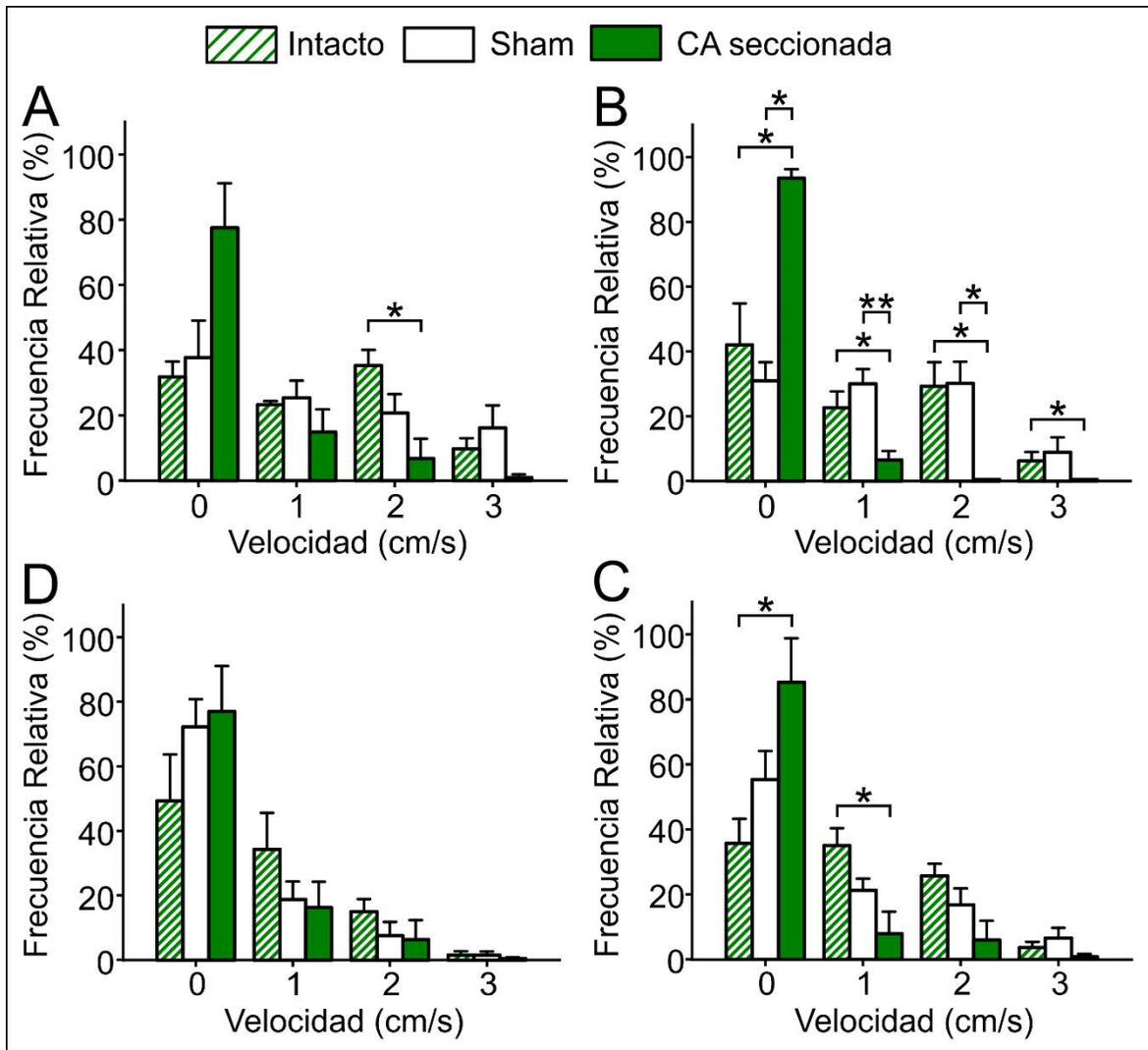


Figura 11. Efecto de la sección completa del tracto conectivo del cangrejo en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz verde durante una hora. En la ordenada se muestra la frecuencia relativa medida en porcentaje (%), en la abscisa, la velocidad (cm/s). La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba de ANOVA de una vía para datos paramétricos, o Kruskal Wallis para datos no paramétricos. A) Velocidad medida a los 5 minutos. B) Velocidad medida a los 25 minutos. C) Velocidad medida a los 45 minutos. D) Velocidad medida a los 65 minutos.

\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$

#### 4.7 Efecto de la luz verde en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección de la cadena abdominal del lado izquierdo

Conformado por una población de 4 cangrejos, en este grupo se notó que la respuesta locomotora decreció paulatinamente a lo largo del tiempo, de hecho, la disminución del desplazamiento tanto en el perfil, como en el promedio es bastante similar a lo que se ve en los grupos intacto y con falsa lesión. El desplazamiento inicial recorrido tuvo un valor de 388 ( $\pm 43$ ) cm, con una velocidad promedio de 1.305 ( $\pm 0.098$ ) cm/s.

Tabla 29. Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con sección del tracto conectivo izquierdo estimulado con luz monocromática verde.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-MR de una vía	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Sección Izquierda	5	388 (43)	4	0.948	0.465	24.546	0.016	5 vs. 25	3.285	0.024
	25	313 (51)						5 vs. 45	7.402	5.623E-5
	45	219 (60)						5 vs. 65	10.046	9.902E-7
	65	159 (68)								

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Dunnett Test.

El resultado obtenido de la prueba de normalidad fue de 0.948,  $p > 0.05$ , lo cual confirmó que estos fueron normales. Después de esto, cuando se hizo la comparación de los datos del desplazamiento en función del tiempo, la prueba de ANOVA determinó que si existió diferencia estadísticamente significativa al tener un valor de  $p < 0.05$ .

Posteriormente, se hizo la comparación entre los datos de 5 minutos contra el resto del tiempo, y aquí encontramos que existió diferencia estadísticamente significativa, donde 5 vs. 25 minutos tuvo un valor de  $|t|=3.285$ ,  $p < 0.05$ ,  $|t|=7.402$ ,  $p < 0.001$  para 5 vs. 45 minutos y  $|t|=10.046$ ,  $p < 0.001$  para 5 vs. 65 minutos.

Tabla 30. Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con la sección de la cadena abdominal del lado izquierdo vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática verde.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	5	375 (37)	5	0.949	0.727	0.010	0.990
Falsa Lesión (sham)		385 (84)	6	0.956	0.792		
Seccionado Izquierdo		388 (43)	4	0.863	0.272		
Intacto	25	345 (38)	5	0.962	0.820	0.081	0.922
Falsa Lesión (sham)		333 (60)	6	0.917	0.487		
Seccionado Izquierdo		313 (51)	4	0.861	0.264		
Intacto	45	295 (19)	5	0.827	0.131	0.482	0.629
Falsa Lesión (sham)		269 (60)	6	0.945	0.703		
Seccionado Izquierdo		219 (60)	4	0.959	0.774		
Intacto	65	258 (33)	5	0.689	0.007	1.123	0.570
Falsa Lesión (sham)		228 (82)	6	0.853	0.166		
Seccionado Izquierdo		159 (68)	4	0.986	0.935		

(a) Shapiro-Wilk test.

Los datos de la prueba de normalidad de la distancia recorrida de los 3 grupos mostraron normalidad para los datos de 5, 25 y 45 minutos; sin embargo, los datos de 65 minutos no fueron normales para el desplazamiento del grupo intacto, dando un valor de 0.689,  $p < 0.01$ , teniendo por consecuencia, que todo el bloque de 65 minutos fuera de datos no normales.

Mientras tanto, la comparación en triadas reveló que no hubo diferencia estadísticamente significativa en ninguno de los 4 experimentos realizados, teniendo como resultados de ANOVA 0.01,  $p > 0.05$  a los 5 minutos; 0.081,  $p > 0.05$  a los 25 minutos; 0.482,  $p > 0.05$  a los 45 minutos, y 1.123,  $p > 0.05$  a los 65 minutos (véase Figura 12).

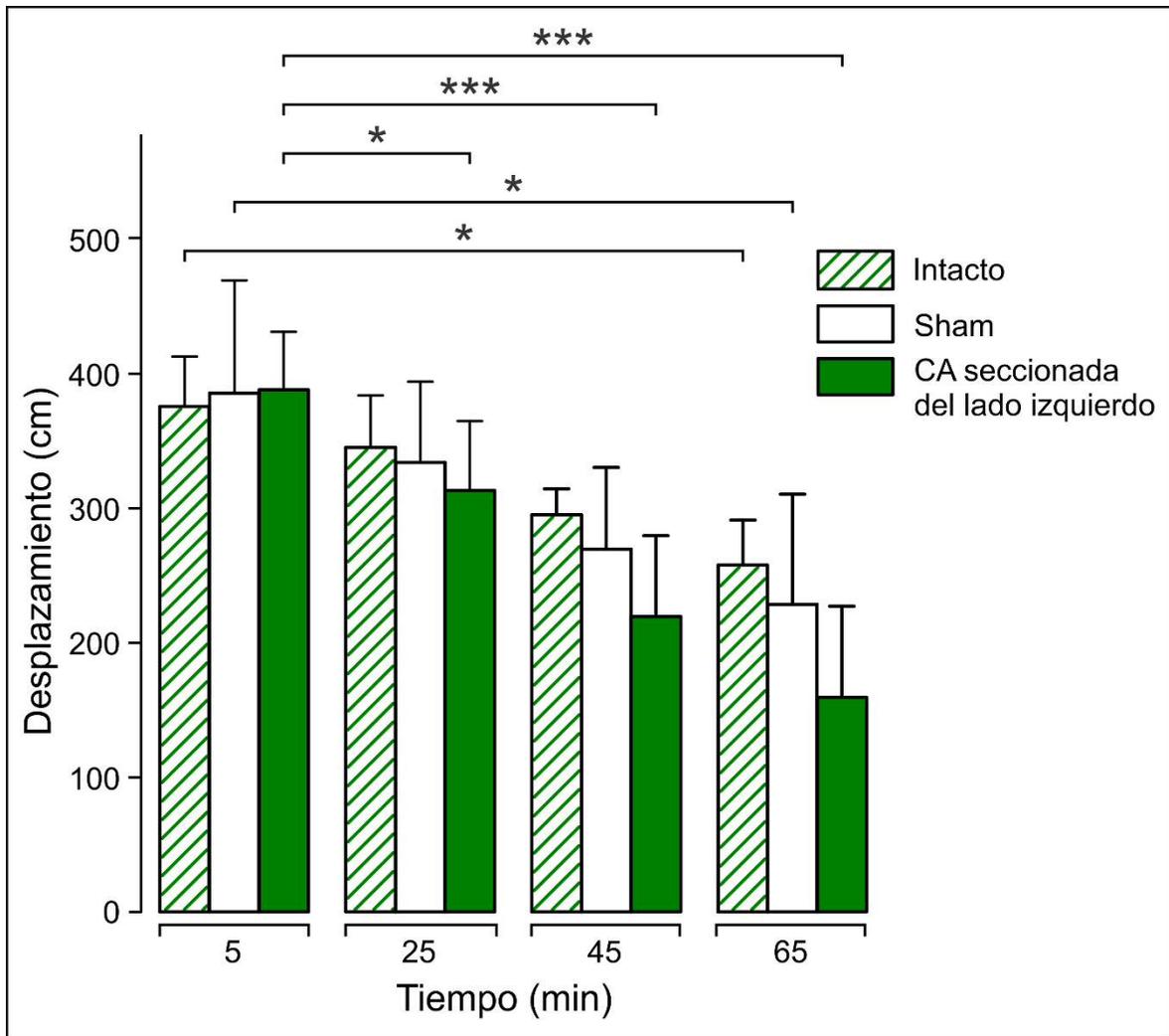


Figura 12. Efecto de la sección del tracto conectivo del lado izquierdo en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática verde durante una hora. En la ordenada, el desplazamiento (cm) del cangrejo en el lapso de 5 minutos a partir de la fotoestimulación. En la abscisa, el curso temporal (min) de la respuesta del cangrejo observada con cada estímulo luminoso. La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba estadística de ANOVA de una sola vía para los datos paramétricos, y Kruskal Wallis ANOVA para datos no paramétricos. \* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$

Tabla 31. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 5 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	32 (5)	5	0.843	0.173	0.021	0.990
Falsa Lesión (sham)		38 (11)	6	0.695	0.005		
Seccionado Izquierdo		35 (8)	4	0.952	0.727		
Intacto	1	23 (1)	5	0.918	0.516	0.139	0.872
Falsa Lesión (sham)		25 (5)	6	0.952	0.757		
Seccionado Izquierdo		26 (5)	4	0.994	0.976		
Intacto	2	35 (5)	5	0.951	0.746	1.824	0.203
Falsa Lesión (sham)		21 (6)	6	0.964	0.851		
Seccionado Izquierdo		25 (6)	4	0.870	0.297		
Intacto	3	10 (3)	5	0.934	0.626	0.318	0.733
Falsa Lesión (sham)		16 (7)	6	0.804	0.063		
Seccionado Izquierdo		13 (6)	4	0.958	0.769		

(a) Shapiro-Wilk test.

En los primeros 5 minutos, la comparación de los datos de la velocidad, mostraron normalidad en los 3 grupos de animales al aplicar la prueba de Shapiro-Wilk ( $p > 0.05$ ), con excepción del bloque de velocidad 0 cm/s, donde el grupo de falsa lesión no tuvo datos normales al obtener un valor de  $p < 0.05$ .

Enseguida, se hizo la comparación en triadas de los grupos, y los valores de ANOVA concluyeron que, las pruebas no son estadísticamente significativas cuando se comparan entre sí, en ninguno de los 4 bloques de velocidad, teniendo esta un valor de  $p > 0.05$  (véase Figura 13).

Tabla 32. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 25 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	42 (13)	5	0.762	0.039	0.056	0.972
Falsa Lesión (sham)		31 (6)	6	0.974	0.919		
Seccionado Izquierdo		34 (8)	4	0.992	0.968		
Intacto	1	23 (5)	5	0.908	0.458	0.636	0.546
Falsa Lesión (sham)		30 (5)	6	0.958	0.804		
Seccionado Izquierdo		27 (5)	4	0.826	0.156		
Intacto	2	29 (7)	5	0.817	0.110	0.005	0.995
Falsa Lesión (sham)		30 (7)	6	0.981	0.957		
Seccionado Izquierdo		30 (9)	4	0.971	0.849		
Intacto	3	6 (4)	5	0.861	0.231	0.163	0.851
Falsa Lesión (sham)		9 (4)	6	0.844	0.140		
Seccionado Izquierdo		9 (5)	4	0.942	0.664		

(a) Shapiro-Wilk test.

Al analizar los datos de velocidad a los 25 minutos, la prueba de normalidad tuvo como resultado que, exceptuando al grupo de cangrejos intactos en el bloque de velocidad 0 cm/s, el resto de los tratamientos tuvo datos normales ( $p > 0.05$ ). El grupo de cangrejos intactos tuvo un valor de 0.762,  $p < 0.05$ .

Cuando se compararon los datos de los tratamientos en triadas, los resultados de las pruebas de ANOVA revelaron que en ninguno de los bloques de velocidad hubo diferencia estadística ( $p > 0.05$ ).

Tabla 33. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 45 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía	Prob>F
Intacto	0	36 (8)	5	0.783	0.059	0.862	0.447
Falsa Lesión (sham)		55 (9)	6	0.904	0.397		
Seccionado Izquierdo		51 (19)	4	0.924	0.558		
Intacto	1	35 (5)	5	0.939	0.659	2.055	0.171
Falsa Lesión (sham)		21 (3)	6	0.951	0.750		
Seccionado Izquierdo		21 (9)	4	0.995	0.982		
Intacto	2	26 (4)	5	0.894	0.379	0.613	0.558
Falsa Lesión (sham)		17 (5)	6	0.988	0.982		
Seccionado Izquierdo		23 (10)	4	0.993	0.973		
Intacto	3	4 (2)	5	0.802	0.084	0.339	0.719
Falsa Lesión (sham)		7 (3)	6	0.855	0.173		
Seccionado Izquierdo		5 (2)	4	0.969	0.834		

(a) Shapiro-Wilk test.

Cuando comparamos los datos de la velocidad de los 3 tratamientos, en los 4 bloques de velocidad, estos presentaron normalidad en los datos ( $p > 0.05$ ).

No obstante, los resultados de la prueba de ANOVA arrojaron que la comparación en triadas de los datos de la velocidad del grupo con sección de cadena abdominal del lado izquierdo, los grupos intacto y de falsa lesión no presentaron diferencia estadística en ninguna de los bloques (ver Figura 13).

Tabla 34. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo izquierdo vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 65 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	49 (14)	5	0.878	0.302	0.739	0.498
Falsa Lesión (sham)		72 (9)	6	0.910	0.437		
Seccionado Izquierdo		62 (21)	4	0.772	0.060		
Intacto	1	34 (11)	5	0.949	0.727	0.854	0.450
Falsa Lesión (sham)		19 (6)	6	0.929	0.576		
Seccionado Izquierdo		21 (11)	4	0.828	0.163		
Intacto	2	15 (4)	5	0.795	0.074	0.360	0.835
Falsa Lesión (sham)		8 (4)	6	0.750	0.020		
Seccionado Izquierdo		15 (9)	4	0.829	0.165		
Intacto	3	1 (1)	5	0.675	0.005	0.006	0.997
Falsa Lesión (sham)		1 (1)	6	0.645	0.002		
Seccionado Izquierdo		2 (2)	4	0.693	0.010		

(a) Shapiro-Wilk test.

En la última medición, a los 65 minutos, los datos de la velocidad cumplieron con los supuestos de normalidad en los bloques de 0 y 1 cm/s ( $p > 0.05$ ); el grupo de cangrejos con falsa lesión, no presentó normalidad con velocidad 2 cm/s, al tener este un valor de  $p < 0.05$ , mientras que el bloque de 3 cm/s tampoco fue normal al tener valores de  $p < 0.05$  en los 3 grupos de cangrejos.

En tanto que, en la comparación en triadas de los datos de velocidad, las respectivas pruebas de ANOVA dieron como resultado que no existió diferencia estadísticamente significativa en la comparación de estas, en ninguno de los bloques de velocidad (véase Figura 13).

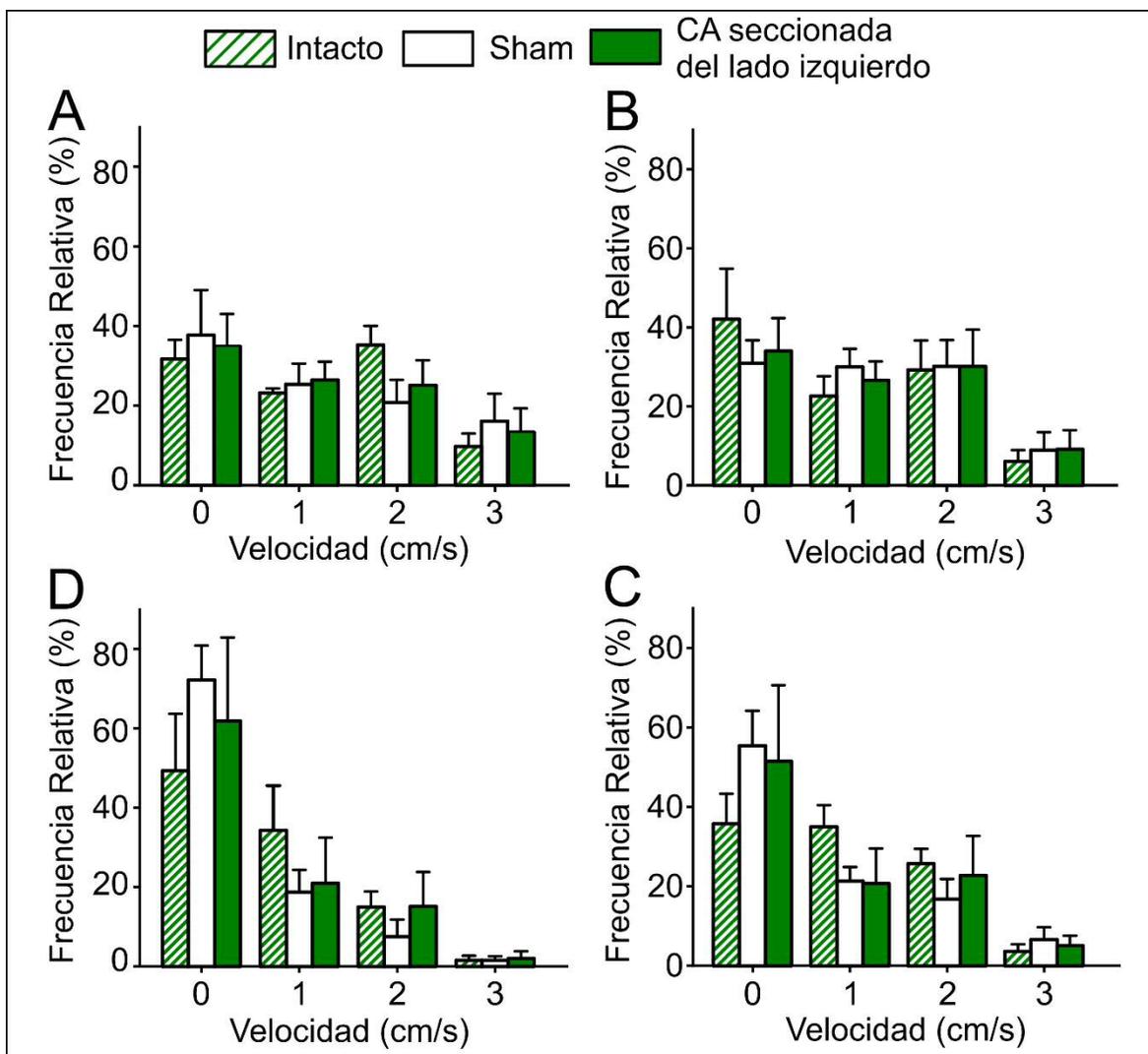


Figura 13. Efecto de la sección de la cadena ganglionar abdominal del cangrejo del lado izquierdo, en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz verde durante una hora. En la ordenada, la frecuencia relativa (%), en la abscisa, la velocidad (cm/s). La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba de ANOVA de una vía para datos paramétricos, o Kruskal Wallis para datos no paramétricos, seguido de una prueba post hoc de Fisher, para los datos paramétricos. A) Distribución medida a los 5 minutos. B) Distribución medida a los 25 minutos. C) Distribución medida a los 45 minutos. D) Distribución medida a los 65 minutos.

#### 4.8 Efecto de la luz verde en la actividad locomotora del grupo de cangrejos con sección de la cadena abdominal del lado derecho

Este grupo fue conformado por 5 cangrejos. Lo que se pudo notar aquí, fue una tendencia decreciente en la respuesta locomotora con relación con el tiempo, de manera similar a los grupos intacto, falsa lesión y con sección de la cadena ganglionar abdominal del lado izquierdo. Este grupo tuvo un desplazamiento inicial de 533 ( $\pm 94$ ) cm, con una velocidad promedio de 1.669 (0.120) cm/s. Cabe destacar que, al igual que en su equivalente medido bajo luz azul, este grupo tuvo un desplazamiento total promedio alto (véase tabla 35).

Tabla 35. Curso temporal de la respuesta locomotora del cangrejo con sección del tracto conectivo derecho estimulado con luz monocromática verde.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-MR de una vía	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Sección Derecha	5	533 (94)	5	0.924	0.116	21.07	0.010	5 vs. 25	2.025	0.155
	25	470 (102)						5 vs. 45	4.065	0.004
	45	406 (104)						5 vs. 65	4.75	0.001
	65	385 (97)								

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Dunnett Test.

Los datos de desplazamiento del grupo con sección del tracto conectivo derecho presentaron normalidad, al obtener un valor de 0.970,  $p > 0.05$ . Después, se encontró que estos también tuvieron diferencia significativa en función del tiempo, la prueba de ANOVA-MR de una vía tuvo como valor 33.773,  $p < 0.01$ .

Finalmente se aplicó la prueba de Dunnett para hacer la comparación entre los datos de 5 minutos contra el resto del tiempo, y esto mostró que los datos son estadísticamente significativos entre 5 vs. 45 minutos ( $|t|=4.065$ ,  $p < 0.01$ ) y 5 vs. 65 minutos ( $|t|=4.75$ ,  $p < 0.01$ ).

Tabla 36. Comparación de la actividad locomotora de los cangrejos con la sección de la cadena abdominal del lado derecho vs. los cangrejos intactos, y con falsa lesión estimulados con luz monocromática verde.

Tratamiento	Tiempo (min)	Distancia recorrida ( $\bar{x}$ , SE) (cm)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	5	375 (37)	5	0.949	0.727	1.252	0.318
Falsa Lesión (sham)		385 (84)	6	0.956	0.792		
Seccionado Derecho		533 (94)	5	0.952	0.750		
Intacto	25	345 (38)	5	0.962	0.820	1.120	0.356
Falsa Lesión (sham)		333 (60)	6	0.917	0.487		
Seccionado Derecho		470 (102)	5	0.781	0.056		
Intacto	45	295 (19)	5	0.827	0.131	1.087	0.365
Falsa Lesión (sham)		269 (60)	6	0.945	0.703		
Seccionado Derecho		406 (104)	5	0.802	0.084		
Intacto	65	258 (33)	5	0.689	0.007	2.082	0.353
Falsa Lesión (sham)		228 (82)	6	0.853	0.166		
Seccionado Derecho		385 (97)	5	0.892	0.369		

(a) Shapiro-Wilk test.

Para la comparación de los datos del desplazamiento, la prueba de Shapiro-Wilk determinó que estos tuvieron normalidad a excepción de la comparación a los 65 minutos, donde los datos del grupo intacto tuvieron como resultado 0.689,  $p < 0.05$ .

Cuando comparamos en triadas los datos, las pruebas de ANOVA determinaron que los 3 tratamientos no fueron estadísticamente diferentes en ningún tiempo, estas dieron como resultados 1.252,  $p > 0.05$  a los 5 minutos, 1.120,  $p > 0.05$  a los 25 minutos, 1.087,  $p > 0.153$  a los 45 minutos y 2.082,  $p > 0.05$  a los 65 minutos.

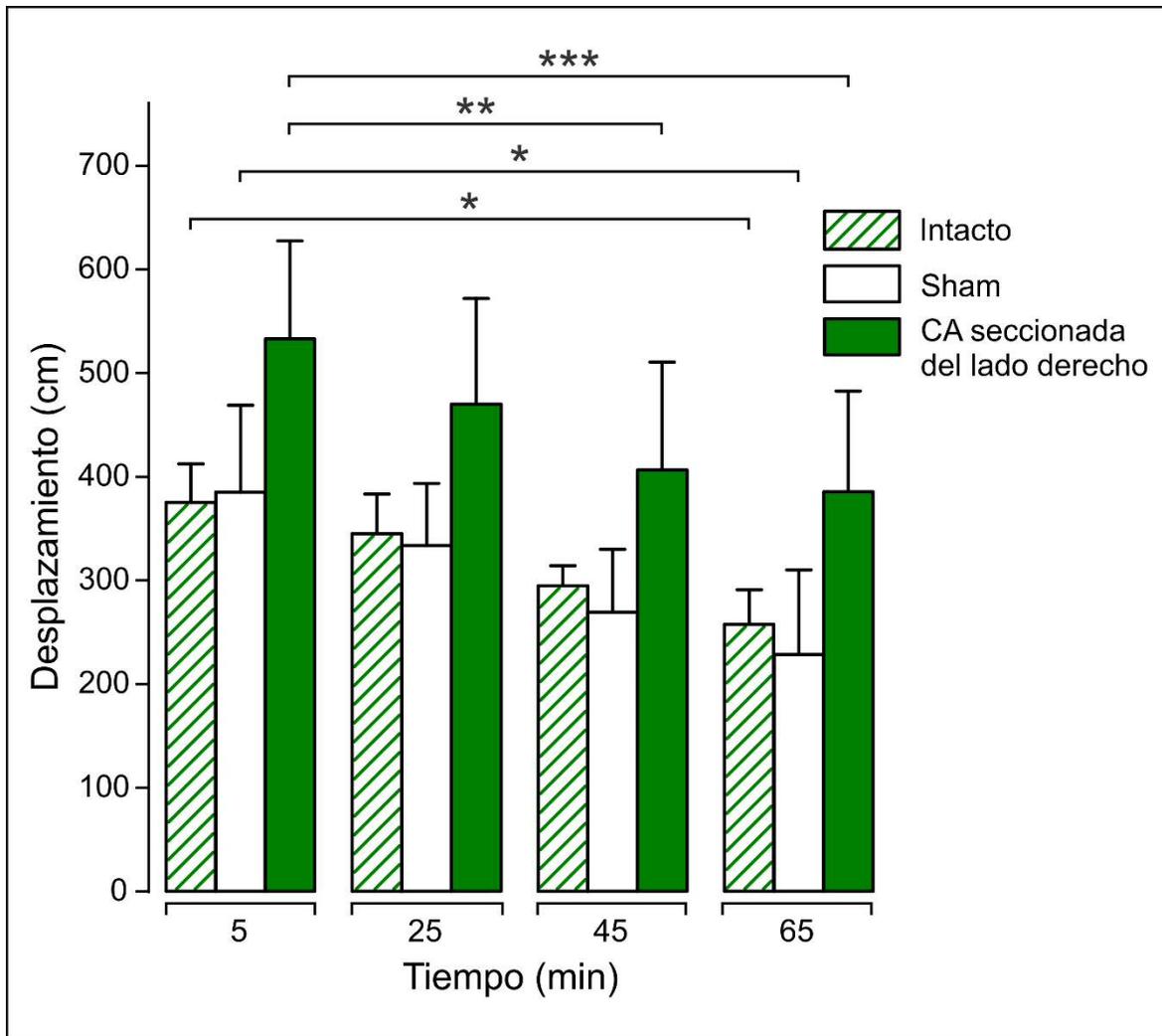


Figura 14. Efecto de la sección del tracto conectivo del lado derecho en la respuesta locomotora del cangrejo medido bajo condiciones de luz monocromática verde durante una hora. En la ordenada, el desplazamiento (cm) del cangrejo en el lapso de 5 minutos a partir de la fotoestimulación. En la abscisa, el curso temporal (min) de la respuesta del cangrejo observada con cada estímulo luminoso. La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba estadística de ANOVA de una sola vía.

\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$

Tabla 37. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 5 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	32 (5)	5	0.843	0.173	0.263	0.877
Falsa Lesión (sham)		38 (11)	6	0.695	0.005		
Seccionado Derecho		31 (7)	5	0.956	0.777		
Intacto	1	23 (1)	5	0.918	0.516	0.375	0.695
Falsa Lesión (sham)		25 (5)	6	0.952	0.757		
Seccionado Derecho		20 (3)	5	0.893	0.372		
Intacto	2	35 (5)	5	0.951	0.746	2.444	0.126
Falsa Lesión (sham)		21 (6)	6	0.964	0.851		
Seccionado Derecho		24 (3)	5	0.961	0.816		
Intacto	3	10 (3)	5	0.934	0.626	1.434	0.274
Falsa Lesión (sham)		16 (7)	6	0.804	0.063		
Seccionado Derecho		24 (5)	5	0.966	0.852		

(a) Shapiro-Wilk test.

En los primeros 5 minutos, los datos de velocidad, de acuerdo con los resultados de la prueba de Shapiro-Wilk fueron normales en los bloques de velocidad 1, 2 y 3 cm/s para los 3 grupos de cangrejos ( $p > 0.05$ ). Para la velocidad 0 cm/s, el grupo de cangrejos con falsa lesión no tuvo datos normales pues este tuvo un valor de  $p < 0.05$  como resultado.

Posterior a la prueba de normalidad, la comparación en triadas entre los grupos de cangrejos en los 4 bloques de velocidad con las pruebas de ANOVA, tuvieron como resultado que no existió diferencia estadísticamente significativa para ninguna velocidad, teniendo valores de ANOVA con  $p > 0.05$  (véase Figura 15).

Tabla 38. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 25 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA- de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F
Intacto	0	42 (13)	5	0.762	0.039	0.004	0.998
Falsa Lesión (sham)		31 (6)	6	0.974	0.919		
Seccionado Derecho		43 (16)	5	0.874	0.284		
Intacto	1	23 (5)	5	0.908	0.458	2.636	0.109
Falsa Lesión (sham)		30 (5)	6	0.958	0.804		
Seccionado Derecho		15 (4)	5	0.857	0.217		
Intacto	2	29 (7)	5	0.817	0.110	0.74	0.498
Falsa Lesión (sham)		30 (7)	6	0.981	0.957		
Seccionado Derecho		20 (6)	5	0.934	0.626		
Intacto	3	6 (4)	5	0.861	0.231	2.020	0.172
Falsa Lesión (sham)		9 (4)	6	0.844	0.140		
Seccionado Derecho		22 (9)	5	0.874	0.281		

(a) Shapiro-Wilk test.

Para los 25 minutos de registro, el análisis de los datos de velocidad mostró que dentro del bloque de velocidad 0 cm/s, el grupo de cangrejos intactos tuvo como resultado un valor de 0.762,  $p < 0.05$ , es decir, no hubo datos normales en esta velocidad. Entretanto, los demás bloques de velocidad si presentaron normalidad en sus datos ( $p > 0.05$ ).

En cuanto a la comparación en triadas de los datos, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de cangrejos, para ninguna de las velocidades (véase Figura 15).

Tabla 39. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 45 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA-de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F	Comparación de pares (b)	Valor  t	Prob> t
Intacto	0	36 (8)	5	0.783	0.059	1.106	0.360	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		55 (9)	6	0.904	0.397			-	-	-
Seccionado Derecho		41 (13)	5	0.789	0.066			-	-	-
Intacto	1	35 (5)	5	0.939	0.659	5.213	0.074	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		21 (3)	6	0.951	0.750			-	-	-
Seccionado Derecho		17 (3)	5	0.654	0.003			-	-	-
Intacto	2	26 (4)	5	0.894	0.379	0.875	0.40	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		17 (5)	6	0.988	0.982			-	-	-
Seccionado Derecho		23 (6)	5	0.920	0.531			-	-	-
Intacto	3	4 (2)	5	0.802	0.084	4.498	0.038	I3 vs. FL3	0.569	0.579
Falsa Lesión (sham)		7 (3)	6	0.855	0.173			I3 vs. SD3	2.808	0.015
Seccionado Derecho		19 (6)	5	0.892	0.367			FL3 vs. SD3	2.364	0.034

(a) Shapiro-Wilk test. (b) Fisher Test

La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk arrojó que, para los datos de experimentos de los 45 minutos, las velocidades 0, 2 y 3 cm/s fueron normales en los 3 tratamientos, con valores de  $p > 0.05$ ; sin embargo, en el bloque de velocidad 1 cm/s, el grupo de cangrejos seccionados de la cadena abdominal derecha, tuvo un valor de  $p < 0.05$ , por lo tanto, este bloque no presentó normalidad en sus datos.

Seguidamente, se compararon los tratamientos en triadas para cada velocidad, donde obtuvimos que el bloque de 3 cm/s fue estadísticamente diferente al hacer dicha comparación, teniendo la prueba de ANOVA como resultado 4.498,  $p < 0.05$ , mientras que en el resto de las velocidades no hubo diferencia estadísticamente significativa.

Finalmente se comparó entre pares, al grupo de animales seccionados contra los grupos cangrejos intactos (intactos y falsa lesión), donde se encontró que el grupo seccionado derecho fue estadísticamente diferente tanto del grupo de cangrejos intacto (2.808,  $p < 0.05$ ) como del grupo con falsa lesión (2.364,  $p < 0.05$ ) (véase Figura 15).

Tabla 40. Análisis comparativo de la velocidad del grupo de animales con sección del tracto conectivo derecho vs. los grupos intacto y con falsa lesión, observada durante la estimulación con luz monocromática verde medida a los 65 minutos.

Tratamiento	Velocidad (cm/s)	Frecuencia Relativa ( $\bar{x}$ , SE) (%)	n	Prueba de normalidad (a)	valor-p	ANOVA de una vía/ KW-ANOVA	Prob>F	Comparación de pares (c)	Valor  t	Prob> t
Intacto	0	49 (14)	5	0.878	0.302	1.610	0.237	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		72 (9)	6	0.910	0.437			-	-	-
Seccionado Derecho		44 (14)	5	0.883	0.321			-	-	-
Intacto	1	34 (11)	5	0.949	0.727	1.544	0.253	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		19 (6)	6	0.929	0.576			-	-	-
Seccionado Derecho		16 (3)	5	0.813	0.104			-	-	-
Intacto	2	15 (4)	5	0.795	0.074	3.282	0.194	-	-	-
Falsa Lesión (sham)		8 (4)	6	0.750	0.020			-	-	-
Seccionado Derecho		23 (7)	5	0.987	0.967			-	-	-
Intacto	3	1 (1)	5	0.675	0.005	7.007	0.030	I3 vs. FL3	-0.006	1
Falsa Lesión (sham)		1 (1)	6	0.645	0.002			I3 vs. SD3	-2.227	0.078
Seccionado Derecho		17 (5)	5	0.984	0.956			FL3 vs. SD3	-2.320	0.061

(a) Shapiro-Wilk test. (c) Mean Rank Diff test

Por último, la tabla de datos de velocidad en los 65 minutos de medición mostró que los bloques de velocidad 0 y 1 cm/s presentaron datos normales para los 3 grupos, teniendo estos, valores de  $p > 0.05$ . Mientras que para las velocidades 2 y 3 cm/s, los grupos de animales intactos y con falsa lesión, no tuvieron datos normales al haber valores de  $p > 0.05$  en los grupos de cangrejos intactos y con falsa lesión.

Después de esta, se realizó la comparación en triadas de los tratamientos, donde solamente en velocidad 3 cm/s existió diferencia estadísticamente significativa entre estos, dando la prueba de KW-ANOVA como resultado  $p < 0.05$ .

Por último, se comparó a los cangrejos con sección de la cadena abdominal derecha en pares contra los cangrejos intactos, y contra los de falsa lesión, donde se observó que, con velocidad 3 cm/s, medida a los 65 minutos, los cangrejos seccionados no fueron estadísticamente diferentes de ninguno de los 2 grupos de cangrejos intactos ( $p > 0.05$ ) (véase Figura 15).

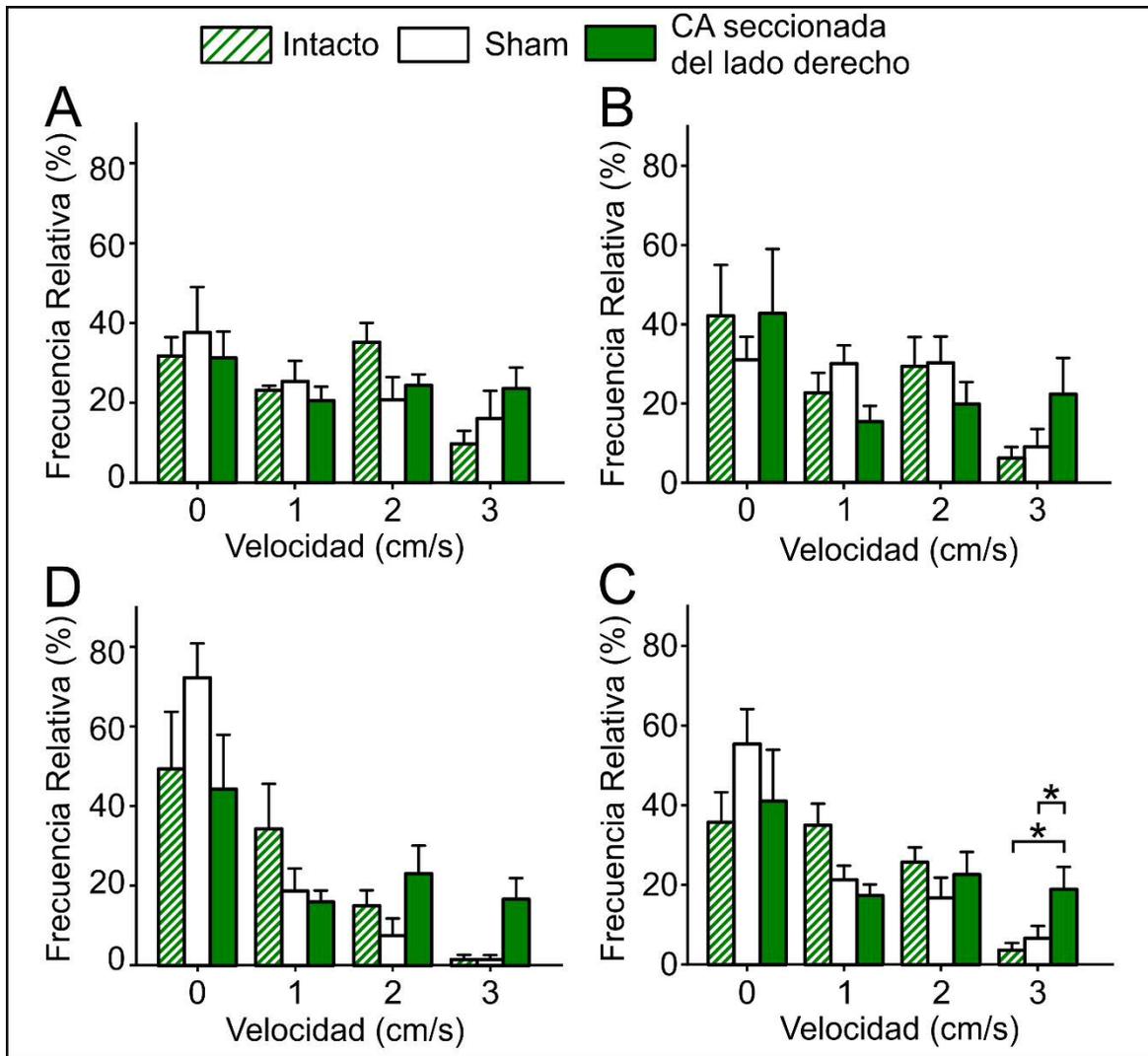


Figura 15. Efecto de la sección de la cadena ganglionar abdominal del cangrejo del lado derecho, en la distribución de la frecuencia de velocidades medida bajo condiciones de luz verde durante una hora. En la ordenada, la frecuencia relativa (%), en la abscisa, la velocidad (cm/s). La comparación entre los tres grupos, para cada ensayo, se hizo con la prueba de ANOVA de una vía para datos paramétricos, o Kruskal Wallis para datos no paramétricos, seguido de una prueba post hoc de Fisher, para los datos paramétricos, o Mean Rank Diff para datos no paramétricos. A) Distribución medida a los 5 minutos. B) Distribución medida a los 25 minutos. C) Distribución medida a los 45 minutos. D) Distribución medida a los 65 minutos.

\* =  $p < 0.05$ , \*\* =  $p < 0.01$ , \*\*\* =  $p < 0.001$

## 5. DISCUSIÓN

Una vez que se obtuvieron los resultados, hay puntos importantes que se resaltan en el presente proyecto. Para empezar, todos los grupos de cangrejos detectaron la luz monocromática azul y verde, lo cual confirma la presencia de opsinas SWS y LWS en el 6° ganglio abdominal (Kingston y Cronin, 2015; Rodríguez-Sosa et. al. 2017; Sánchez-Hernández et. al. 2018).

Con respecto a la respuesta locomotora de los cangrejos, lo que se observó en los grupos de cangrejos con sección completa de la cadena hemiconectiva, respalda lo sugerido por Sánchez-Hernández et. al. (2018), los cuales mencionan que los FRC son neuronas con función de marcapasos que desempeñan un papel de mando en la conducta de caminar de los cangrejos, además de que estas se ven involucradas en otras funciones como fotoentrenamiento, la respuesta de escape, orientación y reproducción. Todo lo anterior descrito se vio considerablemente alterado cuando se cortó el tracto hemiconectivo en su totalidad entre el 5° y 6° ganglio y se llevó a cabo la fotoestimulación con luz monocromática azul y verde respectivamente, donde vimos que la respuesta locomotora de los cangrejos fue casi nula, el desplazamiento de estos estuvo limitado, así como su velocidad, que fue sumamente lenta. Esto sugiere que los FRC deben permanecer intactos para la correcta función en general del sistema locomotor de los cangrejos de río, debido a las conexiones sinápticas de la región caudal del cuerpo con otras regiones encargadas del control y movimiento del cangrejo, con respecto a la cadena torácica y el cerebro.

Para los grupos de cangrejos con sección de la cadena hemiconectiva del lado derecho, expuestos y medidos bajo ambos colores de luz monocromática (azul y verde), estos mostraron un desplazamiento total considerablemente mayor al de los animales intactos, además de que también presentaron intervalos de nula velocidad en menor grado que los cangrejos intactos.

Mientras tanto, la respuesta locomotora observada en los grupos de cangrejos con sección de la cadena hemiconectiva del lado izquierdo no fue igual, pues al

estimularlos con la luz monocromática azul y verde, estos se comportaron de diferente manera; al ser expuestos a luz monocromática azul, este grupo perdió la capacidad para habituarse al medio donde se encontraba, pues conforme pasaba el tiempo de experimentación, estos cangrejos incrementaban su desplazamiento recorrido conforme se realizaban las pruebas. En cambio, al exponerlos bajo luz monocromática verde, el grupo de cangrejos no se vio afectado de ninguna manera, pues estos no perdieron la capacidad para habituarse al medio, manteniendo incluso un perfil de respuesta locomotora similar a los grupos de cangrejos intactos y con falsa lesión.

Los resultados mencionados concuerdan con lo descrito por Kingston y Cronin (2015), es claro que existe una expresión molecular distinta de las opsinas; esto sugiere que, tanto las opsinas SWS como las LWS se expresan en mayor cantidad en el FRC-I que en el FRC-D, pues como se observó, al cortar el tracto conectivo derecho, los cangrejos van a desplazarse en mayor proporción; esta asimetría en la expresión de las opsinas puede ir de la mano con la ubicación de los FRC dentro del tracto conectivo de axones que comunican al 6º ganglio abdominal con las otras regiones del SNC del cangrejo (Hermann, 1972).

La sección de la cadena ganglionar abdominal podría tener repercusión en la habituación (Serpico y Frasnelli, 2018), ya que, se ha sugerido que el lado derecho en animales invertebrados controla la memoria a corto plazo (Letzkus et. al., 2006; Rogers y Vallortigara, 2008; Frasnelli et. al., 2014), lo cual puede explicar igualmente, por qué al seccionar el tracto conectivo del lado derecho los cangrejos estos tuvieron un mayor recorrido dentro del acuario.

Sin embargo, el caso de la sección del lado izquierdo de los cangrejos mostró un perfil de respuesta locomotora distinto al resto de los tratamientos; diversos estudios sugieren que la memoria a largo plazo de los invertebrados está controlada por el hemisferio izquierdo (Letzkus et. al., 2006; Rogers y Vallortigara, 2008; Frasnelli et. al., 2014), no obstante, en este estudio se encontró que lo anterior sugerido se cumple únicamente en los experimentos medidos bajo luz monocromática azul, donde se notó la pérdida de habituación en los cangrejos. Sin embargo, dicho patrón

no se repitió bajo condiciones de luz monocromática verde, donde la habituación no se vio alterada, nos permite afirmar que la sección del lado izquierdo no provocó ningún cambio a nivel locomotor en los cangrejos. Lo anterior sugiere que, al menos para el caso de los cangrejos de río *P. clarkii*, la reducción en proporción de la expresión de opsinas SWS altera la memoria de largo plazo de los cangrejos.

En general, en este estudio se determinó que la función de los FRC de la cadena ganglionar abdominal de los cangrejos cumple un papel importante en la respuesta locomotora de estos, pues las conexiones sinápticas que esta región caudal tiene con otras regiones del cuerpo del cangrejo, como la cadena torácica, responsable de las funciones locomotoras de este, así como con el cerebro, encargado de coordinar y regular sus movimientos, deben mantener sinergia para desempeñar funciones importantes, y en ocasiones, vitales para los cangrejos, sin embargo, aún no se tiene claro si otros factores a considerar como el sexo, la temperatura o la época del año, tengan relación con todo lo anteriormente encontrado. En el caso de la temperatura, Pacheco-Ortiz et. al. (2018) y Sánchez-Hernández et. al. (2018), reportaron que la temperatura altera la actividad espontánea, y la actividad inducida del 6º ganglio abdominal, tanto con luz blanca, como con luz monocromática azul y verde respectivamente, pues en ambos casos se vio una mayor fotorespuesta medida a bajas temperaturas (14 y 15° C) que a temperatura ambiente (24 y 25° C). Pero aún no se sabe si la temperatura altera las funciones del cangrejo de río a nivel de actividad locomotora.

Así mismo, otros aspectos de interés descubiertos en este trabajo, como la posible relación que existe entre las opsinas SWS con la memoria y el aprendizaje de los cangrejos, deja abierta la puerta a futuros trabajos de investigación para poder esclarecer esta relación sugerida.

## 6. CONCLUSIONES

- 1) Bajo condiciones de pulsos de luz monocromática azul, los cangrejos con el tracto conectivo seccionado en su totalidad tuvieron una menor respuesta locomotora, con respecto a los 2 grupos de animales con la cadena abdominal intacta.
- 2) Los cangrejos con el tracto conectivo izquierdo seccionado, bajo pulsos de iluminación azul, perdieron la capacidad de habituación al medio donde se encontraban.
- 3) Los cangrejos con el tracto conectivo seccionado del lado derecho, bajo pulsos de iluminación azul, presentaron una mayor respuesta locomotora, con respecto a los 2 grupos de animales testigo con la cadena intacta.
- 4) Los cangrejos a los que se practicó la sección completa del tracto conectivo tuvieron una respuesta locomotora menor bajo pulsos de luz monocromática verde, con respecto a los 2 grupos de animales intactos.
- 5) Los cangrejos con sección del tracto conectivo del lado izquierdo tuvieron una respuesta locomotora similar a los grupos de cangrejo intactos y con falsa lesión, estimulados con pulsos de luz monocromática verde.
- 6) Los cangrejos con sección del tracto conectivo del lado derecho tuvieron una respuesta locomotora mayor, estimulados con pulsos de luz monocromática verde, comparada a los grupos de cangrejos con la cadena abdominal intacta.
- 7) Los resultados sugieren que los fotorreceptores caudales izquierdo y derecho ejercen un efecto diferencial en la respuesta locomotora de los cangrejos de río provocada por los estímulos de luz monocromática azul y verde.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Barrera-Mera B. (1976). Effects of cerebroid ganglion lesions on ERG circadian rhythm of the crayfish. *Physiol Behav* 17:59-64.

Bernal-Moreno JA, Miranda-Anaya M, Fanjul-Moles ML. (1996). Phase shifting the ERG amplitude circadian rhythm of juvenile crayfish by caudal monochromatic illumination. *Biol Rhythm Res* 27:3 299-301.

Bevengut, M., Cattaert, D., & Clarac, F. (1996). Synaptic connections of the common inhibitory motoneurone within the fifth thoracic ganglion of crayfish. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, 178, 337-350.

Bowerman RF. (1977). The control of arthropod walking. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 56A, 231-247.

Bowerman RF., & Larimer JL. (1976). Command neurons in crustaceans. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 54A, 1-5.

Cattaert, D., Pearlstein, E., & Clarac, F. (1995). Cholinergic control of the walking network in the crayfish *Procambarus clarkii*. *Journal of Physiology (Paris)*, 89(4-6), 209-220.

Chrachri, A., & Clarac, F. (1989). Synaptic connections between motor neurons and interneurons in the fourth thoracic ganglion of the crayfish, *Procambarus clarkii*. *Journal of Neurophysiology*, 62, 1237-1250.

Elliott CJH, Koch UT. (1983). Sensory feedback stabilizing reliable stridulation in the field cricket *Gryllus campestris*. *Anim. Behav.*, 31:887-901

Fanjul-Moles, M. L. y Prieto-Sagredo, J. (2003). The circadian system of crayfish, A developmental approach. *Microsc. Res. Tech.* 60, 291-301.

Fernández de Miguel F, Aréchiga H. (1994). Circadian locomotor activity and its entrainment by food in the crayfish *Procambarus clarkii*. *J. Exp. Biol.* 190:9–21.

Frasnelli, E., Haase, A., Rigosi, E., Anfora, G., Rogers, L. J., & Vallortigara, G. (2014). The bee as a model to investigate brain and behavioural asymmetries. *Insects*, 5, 120–138.

Fuentes-Pardo B, Guzmán-Gómez AM, Lara-Aparicio M, López de Medrano S. (2003). A qualitative model of a motor circadian rhythm. *BioSystems* 71:61–69.

Gregory GE. (1974). Neuroanatomy of the mesothoracic ganglion of the cockroach *Periplaneta americana*. I. The roots of the peripheral nerves. *Phil Trans R Soc Lond B* 267:421–465.

Harris-Warrick RM, Marder E (1991). Modulation of neural networks for behavior. *Annu Rev Neurosci* 14, 39–57

Hermann HT. (1972): Analysis of the properties of the crayfish caudal photoreceptor (PRU-photoreceptor unit). In: *Experiments in Physiology and Biochemistry*. (Ed. Kerkut G.A.), Vol. 3, pp. 155–192, Academic Press, London

Hobert O. (2014). Development of left/right asymmetry in the *Caenorhabditis elegans* nervous system: From zygote to postmitotic neuron. *Genesis* 2014, 52, 528–543.

Huxley TH. (1880). *The crayfish: an introduction to the study of zoology*. Cambridge, MA: MIT Press.

Inclán-Rubio V, Fuentes-Pardo B. (1987). Caudal photoreceptors synchronize the circadian rhythm of crayfish-II. Functional relationships between caudal and visual photoreceptors. *Comp Biochem Physiol* 86A:529–536.

Kendig JJ. (1967). Structure and function in the third abdominal ganglion of the crayfish *Procambarus clarkii*. *J Exp Zool* 164:1–19.

Kingston ACN, Cronin TW (2015): Short- and long-wavelength-sensitive opsins are involved in photoreception both in the retina and throughout the central nervous system of crayfish. *J. Comp. Physiol. A* 201, 1137–1145

Kondoh Y, Hisada M. (1986). Neuroanatomy of the terminal (sixth abdominal) ganglion of the crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard). *Cell Tissue Res.* 243, 273–288

Larimer JL, Smith J. (1981). Circadian rhythm of retinal sensitivity in crayfish: Modulation by the cerebral and optic ganglia. *J Comp Physiol* 136:313–326.

Letzkus, P., Ribi, W. A., Wood, J. T., Zhu, H., Zhang, S. W., & Srinivasan, M. V. (2006). Lateralization of olfaction in the honeybee *Apis mellifera*. *Current Biology*, 16, 1471–1476.

Lira-Oliver A. (2018). Modulation of the intensity of the spectral components of polychromatic light within certain regions in space by passive methods by strategically using material optical properties and texture. *Technologies* 2018, 6, 11.

Miranda-Anaya M. (2004). Circadian locomotor activity in freshwater decapods: An ecological approach. *Biol. Rhythm Res.* 35:69–78.

Mulloney B, Tschuluun N, Hall WM. (2003). Architectonics of crayfish ganglia. *Microsc. Res. Tech.* 60, 253–265

Pacheco-Ortiz JA, Sánchez-Hernández JC, Rodríguez-Sosa L, Calderón-Rosete G, Villagrán-Vargas E (2018): Left-right asymmetry in firing rate of extra-retinal photosensitive neurons in the crayfish. *Gen. Physiol. Biophys.* 37: 13–21

Page TL, Larimer JL. (1972). Entrainment of the circadian locomotor activity rhythm in crayfish. *J. Comp. Physiol.* 78:107–120.

Page TL, Larimer JL. (1975). Neural control of circadian rhythmicity in the crayfish. I. The locomotor rhythm. *J. Comp. Physiol.* 97:59–80.

Retzius G. (1890). Zur Kenntniss des Nervensystems der Crustaceen. Stockholm: Samson & Wallin.

Rivera Aragón, Sofía, García Méndez, Mirna (2005). Aplicación de la estadística a la psicología. 1ª edición. Editorial: Miguel Ángel Porrúa, y UNAM. Cap. 3 y 4, pp. 76–136.

Rodríguez-Sosa L, Calderón-Rosete G, y Flores G (2008): Circadian and ultradian rhythms in the crayfish caudal photoreceptor. *Synapse* 62, 643–652

Rodríguez-Sosa L, Calderón-Rosete G, Anaya V, Flores G (2012): The caudal photoreceptor in crayfish: an overview. In: *Photoreceptors: Physiology, Types and Abnormalities*. (Eds. Akutagawa E. and Ozaki K.), pp. 59–78, Nova Science Publishers, Inc, N.Y.

Rodríguez-Sosa L, Calderón-Rosete G, Ortega-Cambranis A, De-Miguel FF (2017). Octopamine cyclic release and its modulation of visual sensitivity in crayfish. *Comp. Biochem. Physiol., A Mol. Integr. Physiol.* 203, 83–90

Rodríguez-Sosa L., Calderón-Rosete G., Ortega-Cambranis A., De-Miguel F. F. (2017). Octopamine cyclic release and its modulation of visual sensitivity in crayfish. *Comp Biochem Physiol a Mol Integr Physiol*, 203, 83–90.

Rogers LJ, Andrew RJ. (2002). Comparative vertebrate lateralization. Cambridge University Press, NY.

Rogers, L. J., & Vallortigara, G. (2008). From antenna to antenna: Lateral shift of olfactory memory recall by honeybees. *PLoS One*, 3(6), e2340.

Rosas Fonseca D, Cruz Albarrán IA, Morales Hernández LA, Sánchez-Hernández JC, Pacheco-Ortiz JA, Rodríguez-Sosa L, Calderón-Rosete G (2018): Crayfish–Tracking Motion Vision: Software de medición de actividad locomotora. Res. IX Congreso Nacional de Tecnología Aplicada a Ciencias de Salud. Puebla, Pue.

Rowell CHF. (1963). A general method for silvering invertebrate central nervous systems. *Q J Microsc Sci* 104:81–87.

Serpico D, Frasnelli, E. (2018). Where the standard approach in comparative neuroscience fails and where it works: General intelligence and brain asymmetries. *Comp. Cognit. Behav. Rev.* 2018, 13, 95–98.

Simon TW, Edwards DH (1990). Light-evoked walking in crayfish: behavioral and neuronal responses triggered by the caudal photoreceptor. *J Comp Physiol A* 166:745–755

Styrishave B, Bojsen BH, Witthoff H, Andersen O. (2007). Diurnal variations in physiology and behavior of the noble crayfish *Astacus astacus* and the signal crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Mar. Fresh Behav. Physiol.* 40:63–77.

Sullivan JM, Genco MC, Marlow ED, Benton JL, Beltz BS, & Sandeman DC. (2009). Brain photoreceptor pathways contributing to circadian rhythmicity in crayfish. *Chronobiology International: The Journal of Biological and Medical Rhythm Research*, 26(6): 1136–1168.

Tobo S, Takeuchi Y, Hori M. (2011). Morphological asymmetry and behavioral laterality in the crayfish, *Procambarus clarkii*. *Ecol. Res.* 27:53.

Tosini G, Ferguson I, Tsubota K. (2016). Effects of blue light on the circadian system and eye physiology. *Mol. Vis.* 2016, 22, 61–72.

Tyrer NM, Gregory GE. (1982). A guide to the neuroanatomy of locust suboesophageal and thoracic ganglia. *Phil Trans R Soc Lond B* 297:91–123.

Vallortigara G, Chiandetti C, & Sovrano VA. (2011). Brain asymmetry (animal). *Wiley Interdiscip. Rev. Cogn. Sci.*, 2:146–157

Vallortigara G, Rogers LJ. (2005). Survival with an asymmetrical brain: advantages and disadvantages of cerebral lateralization. *Behav. Brain Sci.*, 28:575–633

Viccon-Pale JA, Fuentes-Pardo B. (1994). Synchronization by light of the circadian rhythm of motor activity in the crayfish. *Biol. Rhythm Res.* 25:267–276.

Welsh, JH. (1934). The caudal photoreceptor and responses of the crayfish to light. *J Cell Comp Physiol* 4:379–388

Wigglesworth VB. (1959). The histology of the nervous system of an insect, *Rhodnius prolixus*. I. The peripheral nervous system. *Q J Microsc Sci* 100:285–298.

Wilkins LA, Larimer JL. (1972). The CNS photoreceptor of crayfish: Morphology and synaptic activity. *J. Comp. Physiol.* 80:389–407.

Wilkins LA, Larimer JL. (1976). Photosensitivity in the sixth abdominal ganglion of decapod crustaceans: a comparative study. *J Comp Physiol* 106:69–75